

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abou Bekr Belkaïd - TLEMCEM

Faculté de science de la nature et de la vie et science de la terre et de l'univers

Laboratoire Antibiotiques Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité
Biologique

MEMOIRE

En vue de l'obtention du
Diplôme de **MASTER** en
Sciences Biologiques

Option :

Biochimie

Présenté par :

BENAISSA Ismail

Thème :

***Évaluation comparative de l'activité
antioxydante des fractions des extraits d'une
plante médicinale, de deux stations différentes***

Soutenu le : 24 / 06 / 2024

Devant le jury :

Président :	Mr AZZI Rachid	Professeur	Université de Tlemcen
Examineur :	Mme CHAOUCHE Farah	Professeur	Université de Tlemcen
Encadrant :	Melle MEZOUAR Dounia	MCA	Université de Tlemcen

Année universitaire : 2023/2024

Remerciements

En préambule à ce mémoire je tiens tout d'abord à remercier bon Dieu qui m'a donné la force, la patience et la volonté d'accomplir ce modeste travail

En tout premier lieu, j'exprime ma profonde gratitude à mon promotrice **Mlle MEZOUAR Dounia**, Maître de conférences classe A, au département de biologie à l'Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen, pour l'aide compétente qu'elle m'a apportée, pour le temps qu'elle m'a consacré, pour les précieuses informations et conseils, ses encouragements qu'elle m'a prodigués avec intérêt et compréhension. Je veux vraiment vous remercier car j'ai eu beaucoup de chance de vous avoir comme directrice de mon mémoire.

je remercie également les membres de jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à ma recherche en acceptant d'examiner mon travail et de l'enrichir par leurs propositions

Mr AZZI Rachid, Professeur au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, université de Tlemcen Abou Bekr Belkaid, de m'avoir fait l'honneur de présider ce jury.

Mme CHAOUICHE Farah, Professeur au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, université de Tlemcen Abou Bekr Belkaid, d'avoir accepté d'examiner ce mémoire de master

Je tiens également à exprimer ma reconnaissance envers mes collègues et mes amis qui ont soutenu et encourager mes efforts tout au long de cette aventure académique. Votre soutien moral et vos discussions enrichissantes ont été d'une valeur inestimable pour moi

Je voudrais aussi exprimer ma gratitude envers ma famille pour leur soutien constant et leur encouragement indéfectible tout au long de mes études, votre amour, votre confiance et vos encouragements ont été mes sources d'inspiration le plus profondes

Enfin je tiens à remercier toute personne qui a participé de près ou de loin à l'exécution de ce monde est ce travail encore une fois merci de fond du cœur pour votre soutien inestimable

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à mes chers parents pour leur soutien, leur patience, leur encouragement durant mon parcours scolaire que le Dieu les garde et les protège à ma sœur et mon frère et à toute ma famille.

À Madame Mezouar qui m'a beaucoup aidé

À tous mes amis et à l'ensemble des étudiants de la promotion 2019-2024

المخلص

تستوطن شجرة الزيتون البري في منطقة البحر الأبيض المتوسط، بما في ذلك الجزائر. تستخدم شجرة الزيتون البري، المعروفة باسم الزبوج، على نطاق واسع في الطب الجزائري التقليدي لعلاج بعض الحالات المرضية مثل داء السكري.

تهدف هذه الدراسة إلى إجراء تقييم نوعي وكمي لبعض المركبات النشطة بيولوجيًا في أوراق أشجار الزيتون البري المقطوفة من منطقتين مختلفتين (ندرومة في تلمسان وحاسي مسعود في الصحراء الجزائرية). كما تم تحديد النشاط المضاد للأكسدة لأجزاء أسيتات الإيثيل والمستخلصات المائية المتبقية المحضرة من مستخلص الهيدرو أسيتون المنقوع (70/30) (ح/ح).

أظهرت نتائج الفحص الكلي للبوليفينول والفلافونويد في المستخلصات المائية المتبقية وأجزاء أسيتات الإيثيل من منطقة الصحراء الكبرى أعلى محتوى بالترتيب (197.45 ± 0.007 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك لكل مليغرام من المستخلص) و (509.85 ± 0.014 ميكروغرام مكافئ الكاتشين لكل مليغرام من المستخلص)، على التوالي. فيما يتعلق بالنشاط المضاد للأكسدة، كشفت طريقة تثبيط الجذر الحر DPPH، عن نشاط مرتفع لجزء أسيتات الإيثيل من الصحراء بقيمة IC_{50} تبلغ 14.22 ± 0.005 ميكروغرام/مل ونسبة تثبيط تصل إلى 83.34 %، يليه جزء أسيتات الإيثيل من ندرومة بقيمة IC_{50} تبلغ 16.54 ± 0.021 ميكروغرام/مل ونسبة تثبيط تصل إلى 75.14 %.

يمكننا أن نستنتج أن شجرة الزيتون البري تتمتع بإمكانيات مثيرة للاهتمام كمضاد للأكسدة، وتحديدًا أجزاء أسيتات الإيثيل التي تشكل مصدرًا واعدًا للجزيئات النشطة بيولوجيًا التي يمكن استغلالها لمكافحة بعض الأمراض.

الكلمات المفتاحية: الزيتون البري، المستخلصات المائية المتبقية، أجزاء أسيتات الإيثيل، مضادات الأكسدة.

Résumé

Olea europaea sylvestris, est un olivier sauvage originaire de la région méditerranéenne, dont l'Algérie. L'olivier sauvage, communément appelé Zebboudj, est très utilisé en médecine traditionnelle Algérienne, pour traiter certaines affections, comme le diabète sucré.

Cette étude a pour objectif l'évaluation qualitative et quantitative de certains composés bioactifs des feuilles de l'olivier sauvage, récoltés de deux régions différentes (Nedroma à Tlemcen et Hassi Messaoud au Sahara). Ainsi que, déterminer l'activité antioxydante des fractions d'acétate d'éthyle et des phases aqueuses résiduelles préparées à partir de 'extrait hydroacétonique macéré (30/70) (v/v) pendant 48 heures.

Les résultats du dosage de polyphénol et de flavonoïdes totaux des phases aqueuses résiduelles et des fractions d'éthyle acétate de la région de Sahara ont montré la teneur la plus élevée de l'ordre de ($197,45 \pm 0,007 \mu\text{g EAG/mg d'extrait}$) et ($509,85 \pm 0,014 \mu\text{g EC/mg d'extrait}$), respectivement. En ce qui concerne l'activité antioxydante, la méthode de piégeage du radical DPPH a révélé une importante activité de la fraction d'acétate d'éthyle de Sahara avec une valeur de CI_{50} de $14,22 \pm 0,005 \mu\text{g/ml}$ et un pourcentage d'inhibition atteignant 83,34 %, suivi par la fraction d'acétate d'éthyle de Nedroma avec une valeur de CI_{50} de $16,54 \pm 0,021 \mu\text{g/ml}$ et un pourcentage d'inhibition atteignant 75,14%.

Nous pouvons conclure que l'olivier sauvage a un potentiel antioxydant intéressant, et plus spécifiquement, les fractions d'acétate d'éthyle, qui constituent une source prometteuse de molécules bioactives qui peuvent être exploitées pour lutter contre certaines maladies.

Mots clés : *Olea europaea sylvestris*, phases aqueuses résiduelles, fractions d'acétate d'éthyle, antioxydant.

Abstract

Olea europaea sylvestris is a wild olive tree native to the Mediterranean region, including Algeria. The wild olive tree, commonly known as Zebboudj, is widely used in traditional Algerian medicine to treat several diseases, such as diabetes mellitus.

The aim of this study is to qualitatively and quantitatively evaluate certain bioactive compounds in wild olive leaves, harvested from two different regions (Nedroma in Tlemcen and Hassi Messaoud in the Algerian Sahara). As well as determining the antioxidant activity of ethyl acetate fractions and residual aqueous phases prepared from macerated hydroacetone extract (30/70) (v/v) for 48 hours.

Total polyphenol and flavonoid assay results from the residual aqueous phases and ethyl acetate fractions from the Sahara region showed the highest content in the order of (197.45 ± 0.007 μg EAG/mg extract) and (509.85 ± 0.014 μg EC/mg extract), respectively. Regarding antioxidant activity, the DPPH radical scavenging method revealed a high activity of the Sahara ethyl acetate fraction with an IC_{50} value of 14.22 ± 0.005 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and an inhibition percentage reaching 83.34%, followed by the Nedroma ethyl acetate fraction with an IC_{50} value of 16.54 ± 0.021 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and an inhibition percentage reaching 75.14%.

We can conclude that wild olive has an interesting antioxidant potential, and more specifically, ethyl acetate fractions, which constitute a promising source of bioactive molecules that can be exploited to combat certain diseases.

Key words: *Olea europaea sylvestris*, residual aqueous phases, ethyl acetate fractions, antioxidant.

Table des matières

Introduction	1
Partie bibliographique	1
Partie 01.....	2
I. Olivier sauvage	1
1. Généralités sur l'Olivier :.....	6
2. Historique	6
3. Oléastre ou l'olivier sauvage	6
3.1. Introduction	6
3.2. Classification.....	8
3.3. Description botanique :	8
3.4. Différentiation entre l'olivier sauvage et l'olivier cultivé (Green, 2002).....	11
3.5. Différences entre les fruits et les noyaux de l'olivier sauvage et cultivé :.....	12
4. Principaux constituants des feuilles d'olivier	12
5. Propriétés thérapeutiques des feuilles d'olivier	13
Partie 02.....	6
II. Stress oxydatif.....	6
1. Introduction	17
2. Définition de stress oxydant.....	17
3. Origine des maladies liées au stress oxydatif :.....	17
4. Radicaux libres :.....	18
5. Mécanisme de production des ERO	19
6. Effets du stress oxydant :	20
Partie 03.....	17
III. Antioxydants	17
1. Introduction	24
2. Définition	24
3. Type des antioxydants	24
3.1. Antioxydants primaires :	24
3.2. Antioxydants secondaires :.....	25
Partie.....	24
Expérimentale.....	24
1. Matériel végétal.....	27
3. Tests phytochimiques	29
3.1. Test des Saponosides :.....	29

3.2.	Test des tanins :	30
3.4.	Test des quinones libres :	30
3.5.	Test des anthraquinones :	30
3.6.	Test des terpénoïdes :	30
3.8.	Test des composés réducteurs :	31
4.1.	Dosage des polyphénols totaux des extraits et des fractions d' <i>Olea europaea sylvestris</i>	31
4.2.	Dosage des flavonoïdes des extraits et des fractions d' <i>Olea europaea sylvestris</i>	32
5.	Piégeage du radical libre DPPH par les extraits et des fractions d' <i>Olea europaea sylvestris</i>	32
Résultats	27
Et	27
Discussions	27
1.	Etude phytochimique	41
1.1.	Rendement :	41
1.2.	Tests phytochimiques :	43
1.3.	Dosages quantitatifs	44
1.3.1.	Quantification des polyphénols totaux :	44
1.3.2.	Quantification des flavonoïdes :	45
2.	Evaluation de l'activité antioxydante des extraits d' <i>Olea europaea sylvestris</i> :	47
2.1.	Piégeage du radical DPPH par l'acide ascorbique :	47
2.2.	Piégeage du radical DPPH par la phase aqueuse résiduelle de Nedroma :	48
2.3.	Piégeage du radical DPPH par la phase aqueuse résiduelle de Sahara :	48
2.4.	Piégeage du radical DPPH par la fraction d'acétate d'éthyle de Nedroma :	49
2.5.	Piégeage du radical DPPH par la fraction d'éthyle acétate de Sahara :	50
Conclusion	41

Liste des figures

Figure 01 : Olivier sauvage (photo personnel)

Figure 02 : Racines de l'olivier sauvage (photo personnel)

Figure 03 : Tronc d'olivier sauvage (photo personnel)

Figure 04 : Feuille d'olivier sauvage (photo personnel)

Figure 05 : Fleur d'olivier (photo personnel)

Figure 06 : Fruits d'olivier sauvage (photo personnel)

Figure 07 : Déséquilibre entre la production des espèces radicalaires (ou réactives) de l'oxygène (ERO) (oxydants) et les mécanismes de défense (antioxydants)

Figure 08 : Formation des radicaux libres

Figure 09 : Sites de production d'ERO au niveau de la chaîne respiratoire mitochondrie

Figure 10 : conséquences du stress oxydant

Figure 11 : Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant

Figure 12 : Filtration de l'extrait (photo personnelle)

Figure 13 : Evaporation par rotavapeur (photo personnelle)

Figure 14 : Extraction liquide-liquide (photo personnelle)

Figure 15 : Histogramme représentant le rendement des extraits d'*Olea europaea sylvestris* des deux régions

Figure 16 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Figure 17 : Histogramme représentant les teneurs en polyphénols totaux des phases résiduelles et des fractions d'olivier sauvage des deux régions

Figure 18 : Courbe d'étalonnage de la catéchine

Figure 19 : Histogramme représentant les teneurs en catéchine des phases résiduelles et des fractions d'olivier sauvage des deux régions

Figure 20 : Piégeage du radical DPPH par l'acide ascorbique

Figure 21 : Piégeage du radical DPPH par la phase aqueuse résiduelle d'olivier sauvage de Nedroma

Figure 22 : Piégeage du radical DPPH par la phase aqueuse résiduelle d'olivier sauvage de Sahara

Figure 23 : Piégeage du radical DPPH par la fraction d'acétate d'éthyle d'olivier sauvage de Nedroma

Figure 24 : Piégeage du radical DPPH par la fraction d'acétate d'éthyle d'olivier sauvage de Sahara

Figure 25 : Histogramme représentant les valeurs des pourcentages d'inhibition du DPPH par échantillons

Figure 26 : Histogramme représentant les valeurs des CI_{50} des échantillons

Liste des tableaux

Tableau 01 : Différentiation entre l'olivier sauvage et l'olivier cultivé

Tableau 02 : Différences entre les fruits et les noyaux de l'olivier sauvage et cultivé

Tableau 03 : Espèces réactives de l'oxygène et de l'azote

Tableau 04 : Différentes rendements de nos extraits

Tableau 05 : Différentes résultats de test photochimique de nos extraits

Tableau 06 : Pourcentages d'inhibitions et des CI_{50} des extraits et de l'acide ascorbique sur l'inhibition du DPPH

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

AC : Absorbance du contrôle

AE : Absorbance de l'extrait

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium

ATP: Adenosine triphosphate

O₂ : Oxygène singlet

CAT : Catalase

•CH₃ : Méthyle

DPPH : Radical 2,2 diphényle-1-picrylhydrazyl

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

•CH₂CH₃ : Ethyle

FEA : Fraction d'éthyle acétate

GSH-Px : Glutathion peroxydase

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

•OH : Radical hydroxyle

HOCL : Acide hypochloreux

µg EC/mg d'extrait : Microgramme équivalent catéchine par milligramme d'extrait

µg EAG/mg d'extrait : Microgramme équivalent acide gallique par milligramme d'extrait

NADH : Nicotinamide adénine di nucléotide

NaNO₂ : Nitrite de sodium

NO : Oxyde d'azote

O₂ : Oxygène moléculaire

O₂•⁻ : Radical super oxyde

ONOO : Peroxynitrite

PAR : Phase aqueuse résiduelle

R : Rendement

ROO• : Radical peroxyde

ROOH : Peroxyde alkyle

SOD : Superoxyde dismutase

Introduction

Introduction

Au fil des siècles, la tradition humaine a développé la connaissance et les utilisations des plantes médicinales. Ces dernières années, malgré d'énormes progrès, la recherche de substances naturelles à effet thérapeutique et provenant des plantes, représente l'une des thématiques clés des différents projets scientifiques dans le monde (**Sahli, 2017 ; Abbas et al., 2017 ; Lu et al., 2019**).

Depuis l'Antiquité, afin de soulager les maladies humaines, les plantes médicinales sont utilisées parce qu'elles contiennent différents composés naturels bioactifs nommés les métabolites secondaires : composés phénoliques, alcaloïdes et terpènes. Ces molécules confèrent des propriétés thérapeutiques aux plantes (**Medjadi et Malouci, 2020**).

Les plantes médicinales sont importantes pour plusieurs raisons. Ce sont des espèces végétales surprenantes et fascinantes qui transforment et améliorent nos vies de façon esthétique et pratique. Comme d'autres organismes synthétiques, les plantes sont des récepteurs solaires biologiques qui piègent l'énergie solaire. Elles synthétisent toutes les molécules organiques de différentes structures chimiques. En résumé, les plantes rendent la vie possible sur Terre (**Nabors, 2008**).

Dans notre pays, l'Algérie, de nombreuses maladies ont émergés, particulièrement ceux liées au stress oxydatif. Parmi ces affections, le diabète sucré, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (**Girodon et al., 1997**).

Parmi les plantes médicinales qu'on retrouve en Algérie, *Olea europaea* ou l'olivier, qui est très utilisé en médecine traditionnelle.

Il existe deux variétés d'olivier qui sont très répandues dans la Méditerranée, dont l'Algérie, l'olivier cultivé (*Olea europaea* var. *europaea*) et l'olivier sauvage (*Olea europaea* var. *sylvestris*). Ce dernier peut résister, même dans les régions arides (**Chiappeta et Muzzalupo, 2012**).

En Algérie, la culture de l'olivier se pratique au nord de la ligne séparant les hauts plateaux de la zone tellienne, occupant une superficie d'environ 348196,00 hectares, constituée d'environ 25 millions d'arbres, avec une production annuelle d'environ 514040 tonnes d'olives de tables et une production d'huile d'olive d'environ 64700 tonnes en 2013 (**FAO, 2015**).

L'olivier est une plante médicinale et aromatique. Elle est considérée comme un réservoir des composés naturels à haute valeur ajoutée. Elle a fait l'objet de nombreuses études, en raison de sa teneur en substances actives, en particulier en composés phénoliques. Elle possède de

nombreuses propriétés thérapeutiques. Parmi ces effets biologiques qui suscite un grand intérêt aux scientifiques, la prévention des dommages moléculaires et cellulaires induits par le stress oxydatif (**Djennane et al., 2012 ; Abbas et al., 2017 ; Lakache et al., 2019**).

En outre, les propriétés médicinales de l'olivier sauvage sont principalement attribuées aux feuilles utilisées dans les remèdes traditionnels des pays européens et méditerranéens pour ses molécules bioactives (**Wainstein et al., 2012**). Des études précédentes menées sur les extraits de feuilles de l'olivier sauvage ont démontré leur capacité à réduire la glycémie, le cholestérol, et l'acide urique. Ils ont également été utilisés pour traiter l'hypertension artérielle et l'inflammation (**Al-Attar et Alsalami, 2017**).

Le stress oxydatif est un mécanisme très répandu dans l'organisme humain, dans lequel de nombreuses réactions physiologiques et pathologiques se produisent en raison de l'excès de radicaux libres et cet excès devient délétère. Le stress oxydatif est un facteur principal dans la genèse des maladies multifactorielles incurables tels que le cancer, le diabète sucré, les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives (**Haleng et al., 2007 ; Migdal et Serres, 2011**).

Dans ce contexte, nos travaux de recherche de ce mémoire de master porteront sur la démonstration et la comparaison de l'activité antioxydante de l'olivier sauvage dans deux stations différentes de l'Algérie :

- La première étude sera réalisée sur l'olivier sauvage de la région de Tlemcen ;
- La deuxième étude sera réalisée sur l'olivier sauvage de la région du désert Algérien.

Partie bibliographique

Partie 01

I. Olivier sauvage

1. Généralités sur l'Olivier :

Parmi les arbres caractéristiques de la région méditerranéenne, nous avons l'olivier, un arbre qui possède une grande importance nutritionnelle, sociale, culturelle et économique (**Claridge et Walton, 1992**) C'est un arbre immortel, qui a une longue durée de vie et peut vivre jusqu'à 1000 ans.

Comme dans la majorité des autres pays méditerranéens, L'arbre de l'olivier constitue l'une des principales espèces végétales fruitières plantées en Algérie. Elle couvre une superficie globale de 350 000 hectares, représentant 23 millions d'arbres, soit donc, plus de 50 % du patrimoine arboricole national algérien (**Missat, 2015**).

L'olivier est un arbre qui représente un symbole de la force et de la victoire, la sagesse et la fidélité, l'immortalité et l'espérance, la richesse et l'abondance, de longévité et de paix (**Breton et al., 2006**).

Il est considéré comme l'un des arbres dispersés à travers l'Afrique, l'Asie, la Méditerranée et l'Europe, Il a été domestiqué et cultivé pour devenir un olivier cultivé.

2. Historique

L'olivier prend son nom du mot grec « *olea* », et est l'un des plus anciens arbres cultivés connus dans le monde. Cet arbre sauvage a probablement poussé à la suite de l'homme qui l'a laissé sur le sol après l'avoir utilisé pour fabriquer des armes et allumer des feux. Le « dressage » de l'olivier sauvage et l'émergence de l'olivier cultivé représente le triomphe d'une civilisation en développement (**Kiritsakis, 1998**). L'olivier a été cultivé il y a environ 6000 ans, c'est-à-dire avant l'invention de l'écriture (**Kostelenos et Kiritsakis, 2017**).

Il y a 14 000 ans, des traces de l'olivier ont été retrouvées en Asie Mineure, des feuilles fossilisées ont également été retrouvées et des traces de pollen de charbon de bois au bord du désert remontent à environ 12 000 avant J.-C. Ces découvertes montrent que l'olivier a été cultivé en Syrie 3500 ans après J.-C. (**Loumou, 2002**).

3. Oléastre ou l'olivier sauvage

3.1. Introduction

L'olivier n'a pas acquis son statut après la découverte de son importance scientifique, mais il a été acquis par la parole de Dieu le Tout-Puissant dans le Saint Coran. Il est mentionné dans le Coran à sept endroits différents, ce qui indique sa grandeur et son importance.

L'olivier est un arbre sacré puisqu'il est cité dans le saint Coran :

(Nous avons fait pousser un arbre, qui croit au Sinai et qui donne l'huile et un assaisonnement) (S. 23-al Mu' minoune -V. 20).

Le prophète (saw) a incité les musulmans à utiliser l'huile d'olive et a dit : **(Consommez de l'huile d'olive et frottez-vous-en le visage car elle provient d'un arbre béni).**

Les deux variétés de l'oliviers, l'olivier cultivé (*Olea europaea* L. var. *europaea*) et l'olivier sauvage ou oléastre (*Olea europaea* L var. *sylvestris*), sont considérés comme deux variétés botaniques qui appartiennent à la famille des Oléacées et sont très répandues dans le bassin méditerranéen **(Green, 2002).**

Le terme « olivier » désignera l'espèce domestiquée et ses variétés cultivées. L'olivier sauvage, ou oléastre en français, désignera une variété sauvage et inculte de la même espèce biologique. Son nom scientifique est *Olea europaea* subsp *europaea* var *sylvestris*. C'est la forme sauvage ancêtre de l'olivier cultivé et Permettant le maintien de la biodiversité et la lutte contre l'érosion et les incendies **(Fanelli et al., 2022).**

L'olivier ou *Olea europaea* L. issu d'un genre d'arbres à feuilles persistantes de la famille des Oléacées, comprenant 24 genres et 900 espèces. Elle est de la même espèce comme le lilas, le jasmin, le Forsythia et les vrais frênes **(Şahin et Bilgin, 2018).**

Les oliviers sauvages ou oléastres (Figure 01), sont appelés *Jbouj* ou *Zebbouj* en arabe. Ils représentent des formes spontanées de l'olivier exploitées par les agriculteurs. Ces espèces spontanées ou oléastres sont dénommées localement « Berri » et peuvent correspondre à des formes sauvages de l'olivier (*Olea europaea* subsp. *europaea* var. *sylvestris*) **(Barbara et al., 2020).**

L'olivier sauvage fait partie des arbres qui poussent normalement dans des zones aux environnements difficiles. Cet arbre s'adapte à différentes conditions, tels que la sécheresse, le froid, le sol salin et aux sols pauvres, et peut vivre plus de 1000 ans **(Chiappeta et muzzalupo, 2012).**

L'olivier est également d'une grande importance en termes d'environnement, car il contribue à prévenir la désertification et l'érosion des sols **(Mulas et Deidda, 1998).**

L'olivier pousse à l'état sauvage dans tout le bassin méditerranéen, où il est également cultivé, de même que dans les pays d'Amérique ayant un climat similaire. On récolte les feuilles toute l'année et les fruits à la fin de l'été. Il semble que la teneur en principes actifs des feuilles soit plus élevée lorsque celles-ci proviennent de l'espèce sauvage **(Chevallier, 2017).**



Figure 01 : Olivier sauvage (photo personnel)

3.2. Classification

Cette classification est selon (**Cronquist, 1981**) :

- **Embranchement** : Magnoliophyta
- **Sous embranchement** : Magnoliophytina
- **Classe** : Magnoliopsida
- **Sous classe** : Asteridae
- **Ordre** : Scrophulariales
- **Famille** : Oleaceae
- **Genre** : *Olea L.*
- **Genre – espèces** : *Olea europaea L.*
- **Sous-espèces** : *Olea europaea L. ssp. Oleaster Hoffm.et Link (= O. europaea L. ssp. sylvestris*

3.3. Description botanique :

L'olivier sauvage est un arbre très rameux qui peut atteindre 15 à 20 mètres de haut. Selon les Grecs, l'olivier le plus vieux du monde, âgé de 3000 ans environ, se trouve en Crète.

Lorsqu'un olivier est vieux, il ne meurt pas, il émet des rejets à partir de sa souche, sauf si les conditions climatiques (gel, humidité du sol ou sécheresse) lui sont défavorables. Dans des conditions difficiles (présence d'animaux brouteurs ou dans des zones très ventées), il peut conserver une forme buissonnante (Arvy, 2012).

Les racines : très denses, descendent jusqu'à 6 mètres de profondeur (Figure 02).

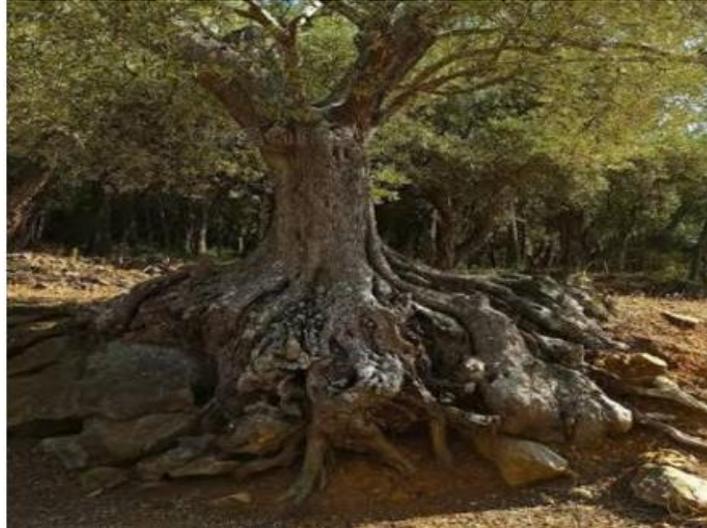


Figure 02 : Racines de l'olivier sauvage (photo personnel)

Le tronc : est noueux, recouvert d'une écorce brun-grisâtre, crevassée (Figure 03).



Figure 03 : Tronc de l'olivier sauvage (photo personnel)

Les feuilles : sont opposées, persistantes (durée de vie de 3 ans), coriaces, entières, dépourvues de stipules et portées par un court pétiole (Figure 04). Elles sont ovales allongées, enroulées sur les bords, vert bleuté au-dessus et gris-blanchâtre au-dessous dû à un revêtement de poils. Elles

possèdent des cellules sclérifiées particulières dans le limbe et une nervure principale saillante à la face inférieure.



Figure 04 : Feuilles de l'olivier sauvage (photo personnel)

Les fleurs : apparaissent à l'aisselle des feuilles vers mai-juin. Ce sont des grappes dressées portant des petites fleurs blanchâtres et hermaphrodites (Figure 05).



Figure 05 : Fleurs de l'olivier sauvage (photo personnel)

Le fruit : appelé aussi acebuchina ou olive sauvage, est représenté par une drupe pourvue d'une pulpe charnue (Figure 06). Il a différentes couleurs selon les variétés. Ce fruit est d'abord ferme et vert, puis se ramollit et devient jaune, pour devenir roux et noir ou rouge foncé à maturité complète (Arvy, 2012).



Figure 06 : Fruits d'olivier sauvage (photo personnel)

3.4. Différentiation entre l'olivier sauvage et l'olivier cultivé (Green, 2002)

L'olivier sauvage (*Olea europaea* var. *sylvestris*) et l'olivier cultivé (*Olea europaea* var. *europaea*) appartiennent à la même espèce, mais se distinguent par plusieurs caractéristiques. Le tableau 01 regroupe quelques différences entre les deux variétés de l'olivier.

Tableau 01 : Différence entre l'olivier sauvage et l'olivier cultivé

Espèce de l'olivier	Architecture de l'arbre	Feuilles	Pousse	Fruits
Olivier sauvage : <i>Olea europaea</i> Linné variété oléastre <i>sylvestris</i>	Arbuste généralement dense, branches minces, courtes et épineuses	Petites et ovales, 3 à 8 cm de long	Courtes et épineuses	Petite taille
Olivier cultivé : <i>Olea europaea</i> Linné variété cultivé	Arbre avec une longueur supérieure à 15 m avec plusieurs troncs	Pas de dimensions précises Elliptique lancéolées à Elliptique	Longues	Grande taille

L'oléastre se différencie de l'olivier cultivé par ces caractères : c'est un arbrisseau, il possède des rameaux épineux et quadrangulaires, ses fruits sont petits et nombreux et son huile est peu abondante (Cronquist, 1988).

L'olivier sauvage se caractérise par ses feuilles qui sont de forme ovale par rapport à l'olivier cultivé qui sont de forme elliptique. Il contient également des pousses coupées, alors que l'olivier cultivé a de longues pousses (Durand et Terral, 2005).

Le système de reproduction de l'olivier, qui est allogame, la pollinisation dépend principalement du vent (pollinisation anémophile) et la dissémination des graines repose sur les oiseaux (diffusion zoochore). Ces formes de diffusion peuvent se produire sur de longues distances géographiques (Zunino et al, 2024).

3.5. Différences entre les fruits et les noyaux de l'olivier sauvage et cultivé :

Outre les différences mentionnées précédemment entre les oliviers sauvages et cultivés, leurs fruits et leurs noyaux présentent également des caractéristiques distinctives (tableau 02) (Terral, 1999 ; Hannachi et al., 2020).

Tableau 02 : Différences entre les fruits et les noyaux de l'olivier sauvage et cultivé (Terral, 1999 ; Hannachi et al., 2020)

Variété	Olivier cultivé (<i>zeitoune</i>)	Olivier sauvage (<i>zebbouj</i>)
Longueur Fruit (mm)	21,35 ± 0,20	11,98 ± 0,22
Largeur Fruit (mm)	16,23 ± 0,12	8,73 ± 0,17
Masse Fruit (g)	3,44 ± 0,08	0,59 ± 0,03
Longueur Noyau (mm)	16,30 ± 0,18	10,04 ± 0,42
Largeur Noyau (mm)	8,05 ± 0,06	5,47 ± 0,07
Masse Noyau (g)	0,53 ± 0,01	0,15 ± 0,01

4. Principaux constituants des feuilles d'olivier

Les études phytochimiques menées sur l'olivier sauvage ont permis d'identifier différents composés bioactifs. L'huile obtenue à partir des fruits de l'oléastre contient des acides gras tels que l'acide oléique, l'acide palmitique et l'acide linoléique, qui sont les plus abondants. L'huile contient aussi l' α -tocophérol et le β -sitostérol. Ainsi que, des composés phénoliques (tyrosol (*p*-HPEA), apigénine, oleuropéine, vanilline, acide *p*-coumarique, acide cinnamique, et autres molécules) (Rodrigues et al., 2020).

Les feuilles de l'olivier sauvage contiennent des acides gras (acide palmitique, acide stéarique, acide alpha-linolénique, acide oléique), des acides phénoliques et leur dérivés (acide gallique, acide vanillique, acide protocatéchique), des flavonoïdes (apigénine-7-*O*-glucoside, lutéoline-7-*O*-glucoside, rutine) et des sécoiridoïdes (oleuropéine) (Makowska-Wąs, et al., 2017).

5. Propriétés thérapeutiques des feuilles d'olivier

Les feuilles d'olivier sont également l'un des sous-produits de la production d'huile d'olive, représentant 10 % du poids des olives récoltés (**Bouarroudj et al, 2016**).

Elles permettent de faire baisser la tension artérielle et améliore la circulation en assouplissant et en dilatant les artères. Elle favorise aussi la diurèse, fait régresser les œdèmes et diminue le taux d'urée sanguine, elle est donc indiquée chez les personnes souffrant d'hypertension ou d'une insuffisance cardiaque ou rénale

Les feuilles d'olivier ont aussi une action hypoglycémiant manifeste : cette propriété est très intéressante quand la personne souffrant d'hypertension est aussi diabétique (**Debuigne et Couplan, 2009**). Elles sont riches en une grande variété de composés phénoliques, qui sont responsables de plusieurs propriétés biologiques, y compris antioxydant et anti-inflammatoire, antimicrobien, ainsi que des effets cardiovasculaires bénéfiques

L'extrait de feuille d'olivier sauvage peut être utilisé dans le traitement de maladies, telles que les maladies liées au stress oxydatif, les maladies cardiovasculaires, grâce à des composés phénoliques comme les sécoiridoïdes (oleuropéine, ligstroside, diméthylleuropeine) et les flavonoïdes (apigénine, lutéoline, luolin-7-O-glucoside, etc.), avec autres composés phénoliques (hydroxytyrosol, tyrosol, acide caféique, acide férulique, etc), qui ont une activité antioxydante, antimicrobienne, antivirale et anticancéreuse (**Bousliba et Bouabida , 2020**).

Partie 02

II. Stress oxydatif

1. Introduction

La molécule d'oxygène est un gaz indispensable à la vie, à l'exception de certains organismes anaérobiques et aérotolérant, il est nécessaire à tous les animaux, les plantes et les bactéries pour la production de l'ATP mitochondrial à partir des nutriments. Sa déficience entraîne des retentissements physiopathologiques importants et induit des maladies respiratoires chroniques. En contrepartie, quand le dérèglement en oxygène peut être toxique et entraîner un stress oxydatif (Christelle, 2006).

2. Définition de stress oxydant

Le stress oxydant est un phénomène qui représente un déséquilibre entre la production des espèces oxygénées réactives (EOR) et la capacité de défense antioxydant (Figure 07) (Halliwell et Gutteridge, 2007). C'est l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'attaque de ces espèces (Christelle, 2006).

Ce déséquilibre représente le résultat d'un déficit en antioxydant ou d'une surproduction des espèces oxydantes ou les deux à la fois (Picchi et al., 2006), ce qui provoque certaines maladies (immunodépression, diabète, maladies cardio-vasculaires, ...)

A cause de nos mauvaises habitudes nutritionnelles, il y aura une augmentation anormale de la production des EOR dans notre organisme (Valko et al., 2005).



Figure 07 : Déséquilibre entre la production des espèces radicalaires (ou réactives) de l'oxygène (ERO) (oxydants) et les mécanismes de défense (antioxydants) (Boussadi et Bououden, 2020).

3. Origine des maladies liées au stress oxydatif :

Le stress oxydant représente un facteur qui provoque plusieurs maladies telles que le cancer, les maladies cardio-vasculaires, les maladies oculaires, qui sont :

- **Soit d'origine nutritionnelle**, exemple : carence en vitamine et oligo-éléments ou surcharge en facteur pro-oxydant (acide gras, fer) ... ;
- **Soit d'origine accidentelle**, exemple : exposition à des xénobiotiques pro-oxydant ou inflammation ... ;
- **Soit d'origine génétique (Berger, 2006).**

La majorité des maladies provoquées par le stress oxydant apparaissent avec l'âge, parce que le vieillissement provoque une diminution de défense antioxydante (Sohal et Mockett, 2002).

4. Radicaux libres :

Les radicaux libres représentent les produits du métabolisme normal des cellules (Martemucci et al., 2022).

De façon générale, les radicaux libres sont des éléments qui sont très réactifs et instables (Gilbert, 2000).

Les radicaux libres (RL) sont des fragments moléculaires ou des entités moléculaires, capable d'exister de manière indépendante (d'où le terme « libre »). Ils contiennent un ou plusieurs électrons non appariés dans leur orbitale atomique externe ou leur orbitale moléculaire (Figure 09) (Halliwell et Gutteridge, 2007).

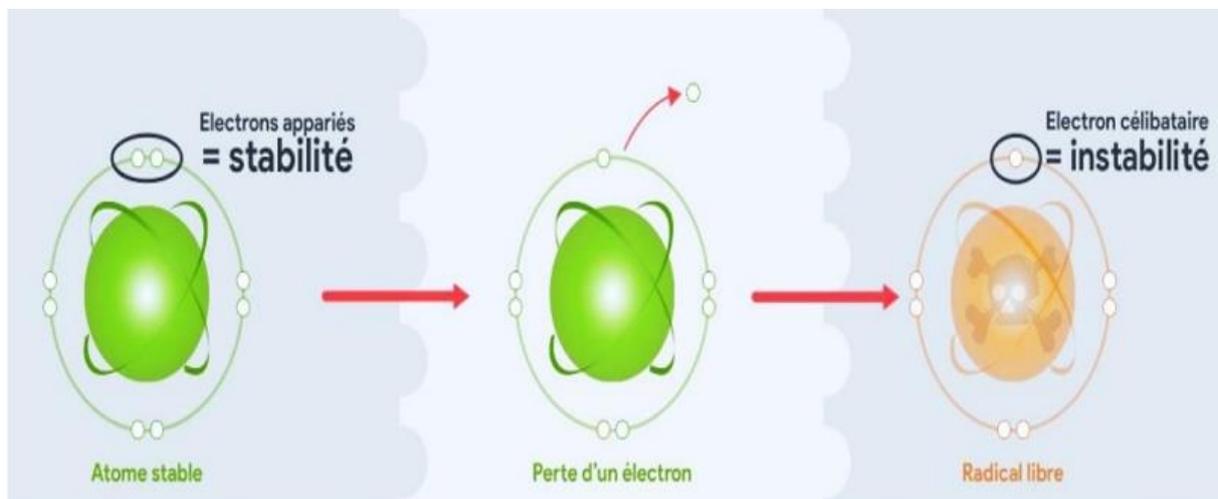


Figure 08 : Formation des radicaux libres (Ghouti et Halbigue ,2019)

Les espèces radicalaires sont des molécules qui peuvent jouer un double rôle, soit un rôle nuisible lorsqu'ils sont en faible concentration, soit un rôle bénéfique sur l'organisme des êtres vivants lorsqu'ils sont en forte concentration (Valko et al., 2006).

Les radicaux libres les plus essentiels proviennent soit des espèces réactives à l'oxygène, soit des espèces réactives à l'azote (Tableau 03).

Tableau 03 : Espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (**Rigas et Sun, 2008 ; Bisbal et al., 2010**)

Espèce réactive à l'oxygène		Espèce réactive à l'azote	
Radicaux libres	Formes non radicalaire	Radicaux libres	Formes non radicalaire
Anion superoxyde	Peroxyde d'hydrogène	Oxyde nitrique	Acide nitrique
Hydroxyl	Acide hypochlorique	Dioxyde de nitrogène	Peroxynitrite
Peroxyl	Peroxynitrite		Alkyl peroxynitrite
Alkoxyl	Oxygène singulet		Anion nitroxyl
Hydroperoxyl	Ozone		

Dans un radical libre, les électrons qui ne sont pas appariés sont marqués par un point sur l'atome ou le groupe dans lequel il réside de manière prédominante (exemple : atome d'hydrogène ($\bullet\text{H}$), hydroxyle ($\bullet\text{OH}$), méthyle ($\bullet\text{CH}_3$) et éthyle ($\bullet\text{CH}_2\text{CH}_3$). Au niveau des radicaux d'oxygène, les électrons libres non appariés sont retrouvés sur l'atome d'oxygène (exemple : superoxyde ($\text{O}_2\bullet^-$), hydroxyl ($\cdot\text{OH}$), peroxy ($\text{ROO}\bullet$) (**Martemucci et al., 2022**).

5. Mécanisme de production des ERO

Il y a deux voies qui permettent la production des espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Figure 10).

- **Transfert d'électrons :** au niveau de ce phénomène, l'oxygène va s'associer avec un électron et il va donner un super oxyde.
- **Scission homolytique des liaisons covalentes :** A ce niveau, la liaison qui se trouve entre deux atomes et qui maintenait leur stabilité, va subir une scission et résulte une production de deux molécules distinctes instables (ce phénomène nécessite de l'énergie) (**Min et Boff, 2002**).

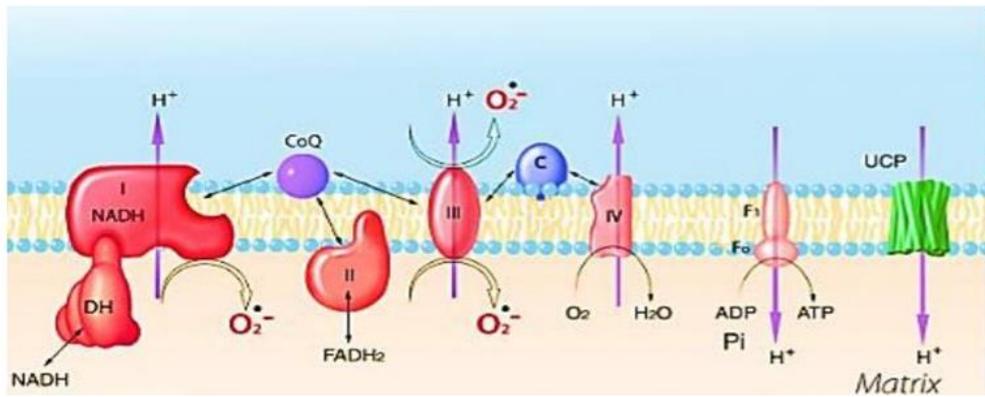


Figure 09 : Sites de production d'ERO au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale (Balaban et al., 2005)

6. Effets du stress oxydant :

Selon (Arvy, 2012), le déséquilibre de la balance entre les antioxydants et la production des ERO provoque et constitue le stress oxydant qui va conduire à l'endommagement de manière définitive les constituants cellulaires de l'organisme (les lipides, les protéines, l'ADN, les glucides) et pouvant aller jusqu'à la mort cellulaire et qui va induire différentes pathologies (Figure 08).

- Une production excessive de radicaux libres et une insuffisance des systèmes de défense anti radicalaires sont à l'origine de maladies et du phénomène de vieillissement ;
- La mutation de l'ADN peut favoriser la formation de cellules cancéreuses ;
- La destruction des protéines est responsable de l'arthrite rhumatoïde ;
- L'oxydation des lipides est à l'origine de l'athérosclérose, du glucose est à l'origine de complications du diabète (Arvy, 2012).

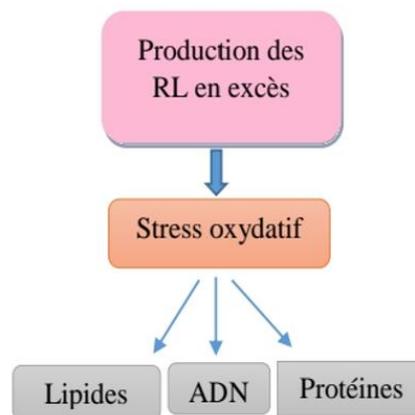


Figure 10 : Conséquences du stress oxydant (Boussadi et Bououden, 2020)

Partie 03

III. Antioxydants

1. Introduction

Pour se défendre contre les lésions oxydatives, les organismes ont développé des défenses qui dépendent principalement des enzymes antioxydants, de la disponibilité de leurs substrats et de la réparation des lésions. En réponse aux oxydants, ces défenses augmentent et renforcent ainsi la capacité à détoxifier les oxydants et à réparer les dommages oxydatifs. Les agents qui renforcent ces défenses sont les principales stratégies qui constituent la base de la thérapie antioxydant (**Forman et Zhang, 2021**).

2. Définition

Les antioxydants sont des substances qui convertissent les molécules de radicaux libres en formes inoffensives en leur donnant un électron, et qui évitent les réactions nocives (**Lannitti et Palmieri, 2009**). Ils peuvent aussi être défini comme toute substance à faible concentration capable de retarder ou empêcher l'oxydation des substrats (**Droque, 2002**).

Les antioxydants, en raison de leurs capacités à réduire le stress oxydatif, jouent un rôle très important dans le maintien de la santé, la prévention et le traitement de plusieurs maladies. Ils protègent contre la détérioration des cellules et le vieillissement prématuré de celle-ci et la lutte contre les mutations cellulaires (**Munteanu et Apetrei, 2021**).

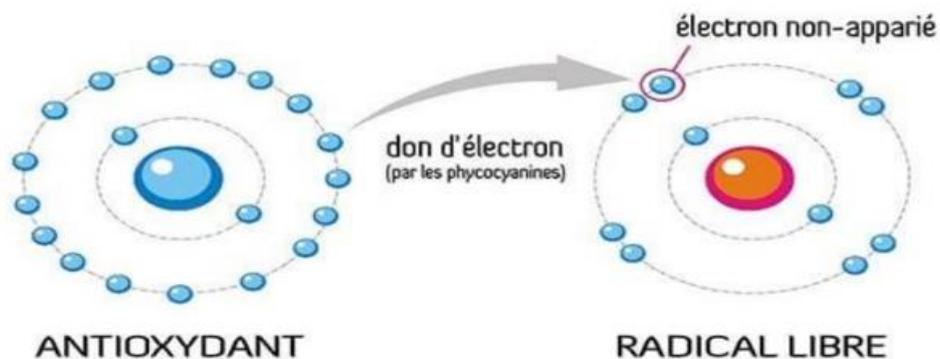


Figure 11 : Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant (**Valerie, 2019**)

3. Type des antioxydants

3.1. Antioxydants primaires :

Ils sont appelés aussi, antioxydants radicalaires ou vrai, ce sont des molécules qui font le transfert d'un hydrogène. Ils peuvent faire l'interruption de la chaîne auto-catalytique. Exemple : $AH + R\bullet \rightarrow A\bullet + RH$. La molécule AH est un antioxydant et le $A\bullet$ est un radical plus stable (**Rolland, 2004**).

Les antioxydants primaires sont des antioxydants endogènes produits par notre organisme. Ils ont des propriétés antioxydantes et comprennent plusieurs enzymes antioxydantes :

- Superoxyde dismutase (SOD)
- Catalase (CAT)
- Glutathion peroxydase (GSH-Px) (**Munteanu et Apetrei, 2021**).

3.2. Antioxydants secondaires :

Ils sont appelés aussi, antioxydants préventifs. Ce sont des molécules qui inhibent la production des radicaux libres et peuvent aussi décomposer les hydroperoxydes en alcool, des thiols et permettre la protection contre la lumière ultraviolette (UV) (**Rolland, 2004**).

Les antioxydants secondaires sont des antioxydants exogènes qui ont des propriétés antioxydantes et qui sont apportés seulement par l'alimentation. Ils comprennent :

- Vitamine C (acide ascorbique), qui est présent dans les fruits et les légumes et qui est détérioré par la chaleur et à la lumière ;
- Vitamines E (tocopherol), qui sont des vitamines liposolubles et anti-inflammatoires et qui sont présents beaucoup plus dans les huiles.
- Vitamines A (rétinol), qui ont la capacité de maintenir la peau et la vision normale et contribue au fonctionnement normal de système immunitaire. Ils sont présents dans les fruits et les légumes (**Munteanu et Apetrei, 2021**).

Partie Expérimentale

La partie pratique a été réalisée dans le laboratoire de la recherche LAPSAB : Antibiotiques, antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique, Faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers – université de Tlemcen.

1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans notre étude est les feuilles de l'olivier sauvage. Les feuilles d'olivier sauvage ont été récoltées durant le mois de février 2024, dans deux stations différentes en Algérie. La première station se trouve à Nedroma, wilaya de Tlemcen. La deuxième station de récolte est à Hassi Messaoud (Sahara algérien).

Les feuilles sont séchées à l'ombre à l'abri de la lumière de soleil, dans un endroit sec et aéré et à température ambiante pendant 45 jours. Une fois séchées, les feuilles d'olivier sauvage ont été réduites en poudre à l'aide d'un mortier, puis extraite selon la méthode de macération.

2. Protocole de préparation des extraits d'*Olea europaea sylvestris*

2.1. Protocole de préparation des extraits bruts des plantes de chaque station

La poudre des feuilles d'olivier sauvage des deux stations d'étude, a été mélangée avec 200 ml d'eau/acétone (30/70) (v/v). L'extraction a été faite par la macération sous agitation pendant 48 heures. L'extrait brut obtenu est filtré sur papier filtre (Figure 12).



Figure 12 : Filtration (Photo personnelle)

Le solvant organique (acétone) est évaporé avec un Rotavapeur (Figure 13).

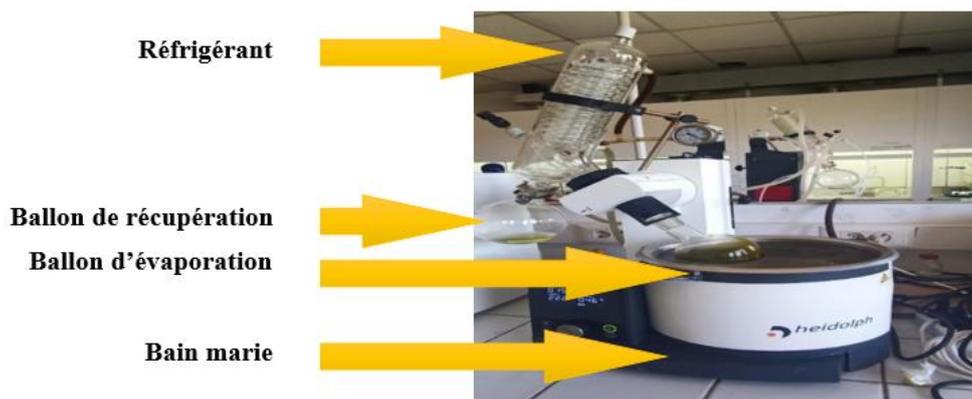


Figure 13 : Rotavapeur (Photo personnelle)

La phase aqueuse sera fractionnée avec l'acétate d'éthyle trois fois par l'utilisation d'une ampoule à décanter.

2.2. Protocole de préparation des fractions des plantes de chaque station

Cette méthode est appelée extraction liquide-liquide. Elle est fréquemment utilisée en analyse pour séparer les mélanges. Elle repose sur la différence d'affinité d'un soluté entre deux phases non miscibles entre elles.

Le fractionnement des phases aqueuses des extraits bruts hydroacétoniques préparés précédemment, est réalisé à l'aide d'une ampoule à décanter (Figure 14).

La phase aqueuse a été fractionnée avec l'acétate d'éthyle trois fois. Ce fractionnement a été effectué pour les deux phases aqueuses des extraits des deux stations d'étude.



Figure 14 : Extraction liquide-liquide (Photo personnelle)

A la fin de cette étape, nous obtenons deux solutions pour chaque extrait de chacune des stations :

- Une phase aqueuse résiduelle (PAR) ;
- Une fraction d'acétate d'éthyle (FAE).

Les phases aqueuses sont séchées à l'étuve à 35 °C et les fractions d'acétate d'éthyle sont évaporées avec un rotavapeur. Les différents résidus obtenus ont été conservés à + 4°C.

2.3. Rendement

Le rendement en extrait végétal est défini comme la quantité d'extrait obtenue à partir d'une quantité donnée de matière végétale, exprimée en pourcentage. Le rendement (R %) des extraits de la plante se calcule en divisant la quantité d'extrait obtenue par la quantité de matière végétale utilisée, puis en multipliant par 100, pour obtenir un pourcentage.

$$R (\%) = \frac{M_1}{M_0} \times 100$$

Où,

M_1 : Masse de l'extrait brut ou de la fraction obtenue après extraction ou fractionnement ;

M_0 : Masse de la matière végétale avant l'extraction.

3. Tests phytochimiques

L'analyse phytochimique est une analyse qualitative utilisée pour révéler, voir et détecter la présence des saponosides, des flavonoïdes, des tanins, des alcaloïdes, des quinones libres, des anthraquinones, des terpénoïdes et des composés réducteurs....

Cette analyse est basée sur des réactions de coloration et/ou précipitations par l'utilisation des réactifs spécifiques (**Harborne, 1998 ; Bruneton, 1999**).

Le protocole de ces tests pour chaque extrait est le suivant :

3.1. Test des Saponosides :

Un volume de 4 ml de chaque extrait est mélangé avec 4 ml d'eau distillée. Après une vigoureuse agitation, le test est positif quand une mousse de hauteur supérieur à 1 cm est présente et persiste (attendre 10 minutes à 20 minutes).

3.2. Test des tanins :

Un volume de 1 ml des extraits est mélangé avec 250 µl d'une solution de FeCl₃ (0,1 %). Après une agitation, puis une incubation pendant 15 minutes à température ambiante, l'apparition d'une couleur bleu noirâtre ou bien brun verdâtre indique la présence de tanins.

3.3. Test des flavonoïdes :

Un volume de 1 ml des extraits est mélangé avec 1 ml d'acide chlorhydrique (HCl), puis, 0,5 g de Magnésium métallique sont ajoutés. Après agitation :

- S'il y a une apparition d'une couleur rouge ou bien rose ou bien orange, cela veut dire une présence des flavonoïdes au niveau de l'extrait et donc le résultat est positif ;
- Si ces couleurs n'apparaissent pas, cela veut dire qu'il n'y a pas de flavonoïdes au niveau de l'extrait et le résultat est donc négatif.

3.4. Test des quinones libres :

Un volume de 1 ml des extraits est mélangé avec 100 µl de NaOH (1 %). Après agitation :

- S'il y a une apparition de couleur rouge ou bien jaune ou bien violette, cela veut dire qu'il y a des quinones libres au niveau de l'extrait et le résultat est donc positif ;
- S'il n'y a aucune apparition de couleur, cela veut dire qu'il n'y a pas de quinones libres dans l'extrait et le résultat est donc négatif.

3.5. Test des anthraquinones :

Un volume de 1 ml des extraits est mélangé avec 1 ml de NH₄OH 10 %. Après agitation :

- S'il y a une apparition de couleur violette, cela veut dire que l'extrait contient des anthraquinones et le résultat est donc positif ;
- Si cette couleur n'apparaît pas, le résultat est donc négatif et l'extrait ne contient pas des anthraquinones.

3.6. Test des terpénoïdes :

Un volume de 1 ml des extraits est mélangé avec 400 µl de chloroforme et 600 µl d'acide sulfurique. Après agitation :

- S'il y a une formation de deux phases et une couleur marron au-dessus, cela veut dire que l'extrait contient des terpénoïdes et donc le résultat est positif ;

- Si cette couleur n'apparaît pas, le résultat est donc négatif et l'extrait ne contient pas des terpénoïdes.

3.7. Test des alcaloïdes :

Après acidification d'un volume de 1 ml de chaque extrait, la solution de chaque extrait est divisée sur deux tubes. Chaque tube est additionné soit de 500 µl de réactif de Mayer, soit de 500 µl de réactif de Wagner. Après agitation :

- S'il y a une apparition d'une précipitation blanche (réactif de Mayer) ou marron (réactif de Wagner), cela veut dire que nos extraits contiennent des alcaloïdes et le résultat est donc positif ;
- S'il n'y a pas de précipités, cela veut dire que nos extraits ne contiennent pas les alcaloïdes et le résultat est négatif.

3.8. Test des composés réducteurs :

Un volume de 1 ml des extraits est mélangé avec 1 ml de réactif de Fehling (0,5 ml réactif A et 0,5 ml de réactif B). Après une agitation et une incubation pendant 10 minutes dans un bain marie :

- S'il y a une formation d'une précipitation rouge brique, cela veut dire que notre extrait contient des composés réducteurs et le résultat est donc positif ;
- S'il n'y a pas de précipités, cela veut dire que nos extraits ne contiennent pas les composés réducteurs et le résultat est négatif.

4. Dosages quantitatifs des extraits et des fractions d'*Olea europaea sylvestris*

4.1. Dosage des polyphénols totaux des extraits et des fractions d'*Olea europaea sylvestris*

Le réactif de Folin-Ciocalteu est utilisé dans cette technique. Il est constitué d'un mélange de l'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et de l'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$).

Les polyphénols totaux sont dosés comme suit : 100 µl de la phase aqueuse résiduelle ou de la fraction d'acétate d'éthyle sont mélangés avec 2 ml de la solution de carbonate de sodium à 7 %. Après agitation et incubation pendant 5 minutes, 100 µl du réactif de Folin-Ciocalteu 0,2 N sont ajoutés. Les tubes sont incubés à la température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 30 minutes. L'absorbance est ensuite mesurée au spectrophotomètre à 700 nm contre un blanc.

Une gamme d'étalonnage est réalisé en parallèle, dans les mêmes conditions opératoires, en utilisant l'acide gallique à différentes concentrations.

Les résultats sont exprimés en microgramme équivalent acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EAG/mg E}$) (Vermeris et Nicholson, 2006).

4.2. Dosage des flavonoïdes des extraits et des fractions d'*Olea europaea sylvestris*

Le dosage des flavonoïdes est réalisé par méthode colorimétrie selon le protocole de **Zhishen et al., 1999**.

Un volume de 500 μl de la phase aqueuse résiduelle ou de la fraction d'acétate d'éthyle est mélangé avec 2 ml d'eau distillée, puis, 150 μl d'une solution de nitrite de sodium à 15 % sont ajouté.

Après 6 minutes d'incubation à température ambiante, 150 μl de chlorure d'aluminium à 10 % sont ajouté. Après 6 minutes, 2 ml d'hydroxyde de sodium à 4 % sont ajouté. Le volume total est complété à 5 ml avec de l'eau distillée.

Après agitation et incubation pendant 15 minutes, l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 510 nm contre un blanc.

La gamme d'étalonnage de la catéchine est préparé dans les mêmes conditions opératoires à des concentrations croissantes.

Les résultats sont exprimés en microgramme équivalent catéchine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EC/mg E}$) (Zhishen et al., 1999).

5. Piégeage du radical libre DPPH par les extraits et des fractions d'*Olea europaea sylvestris*

C'est une méthode largement utilisée dans l'étude de l'activité antioxydante. Le DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl) se caractérise par sa capacité à produire des radicaux libres stables.

La présence de ces radicaux DPPH donne lieu à une coloration violette foncée de la solution, qui absorbe aux environs de 517 nm. La réduction des radicaux DPPH par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution.

L'évaluation de la capacité antioxydante est réalisée comme suit : un volume de 1950 μl d'une solution méthanolique de DPPH à $6,34 \times 10^{-5}$ M, est mélangé avec 50 μl de la phase aqueuse résiduelle ou de la fraction d'acétate d'éthyle à différentes concentrations. Le contrôle négatif

est préparé, en parallèle, en mélangeant 50 µl de méthanol avec 1950 µl de la solution méthanolique de DPPH.

L'acide ascorbique (contrôle positif) est testé dans les mêmes conditions de l'expérimentation, à différentes concentrations.

Après incubation à l'abri de la lumière et à température ambiante pendant 30 minutes, l'absorbance est mesurée à 515 nm (**Atoui et al., 2005**).

Le pourcentage d'inhibition (PI), est calculé selon la formule ci-dessous.

$$\text{PI (\%)} = [(A_C - A_E) / A_C] \times 100$$

Où,

- **A_C** : Absorbance du contrôle ;
- **A_E** : Absorbance de l'extrait ou de la fraction testé.

Résultats
Et
Discussions

1. Etude phytochimique

Dans la partie expérimentale de notre mémoire, nous avons préparé un extrait brut hydroacétonique des feuilles d'*Olea europaea sylvestris* obtenus de deux régions différentes : Nedroma (Tlemcen) et Hassi Messaoud.

Après évaporation de la phase organique, la phase aqueuse a été fractionnée par l'ajout de l'acétate d'éthyle (extraction liquide-liquide).

À la fin, deux solutions différentes sont obtenues pour chaque extrait de chaque région :

- Une phase aqueuse résiduelle de Sahara ;(Hassi messaoud)
- Une fraction d'acétate d'éthyle de Sahara ;(Hassi messaoud)
- Une phase aqueuse résiduelle de Nedroma (Tlemcen) ;
- Une fraction d'acétate d'éthyle de Nedroma (Tlemcen).

1.1. Rendement :

Les rendements des phases résiduelles et des fractions obtenues ont été déterminés par rapport à une masse de 20 g de la poudre des feuilles d'Olivier sauvage de chaque région.

Après l'extraction et récupération des extraits, chaque phase résiduelle et fraction a été caractérisé par sa couleur et son rendement (Tableau 04).

Le rendement est un paramètre qui décrit l'efficacité de l'extraction. Il représente la quantité de la substance que nous voulons extraire dans le solvant d'extraction, par rapport à la quantité initiale de la plante étudiée de départ.

Nous avons obtenu les résultats illustrés dans le tableau.

Tableau 04 : Différents rendements des extraits

Extraits	Masse (g)	Rendement (%)	Aspect	Couleur
PAR (Sahara)	2,855	14,27	Cristallisé	Marron
FAE (Sahara)	1,748	8,74	Cristallisé	Vert
PAR (Nedroma)	2,957	14,78	Cristallisé	Marron
FAE (Nedroma)	1,126	5,63	Cristallisé	Vert

PAR : La phase aqueuse résiduelle ; **FAE :** La fraction d'éthyle acétate

Selon les résultats mentionnés dans le tableau ci-dessus, le rendement des deux phases aqueuses résiduelles des deux régions est élevé par rapport au rendement des deux fractions d'acétate d'éthyle des deux régions.

Le rendement de la phase aqueuse résiduelle d'Olivier sauvage de Sahara (14,27 %) est similaire à celui de la phase aqueuse résiduelle de l'extrait de Nedroma (14,78 %) (Figure 15).

Pour les fractions d'acétate d'éthyle, le rendement de la fraction de l'extrait de Nedroma (5,63 %) est moins élevé par rapport à la fraction de l'extrait de Sahara (8,74 %).

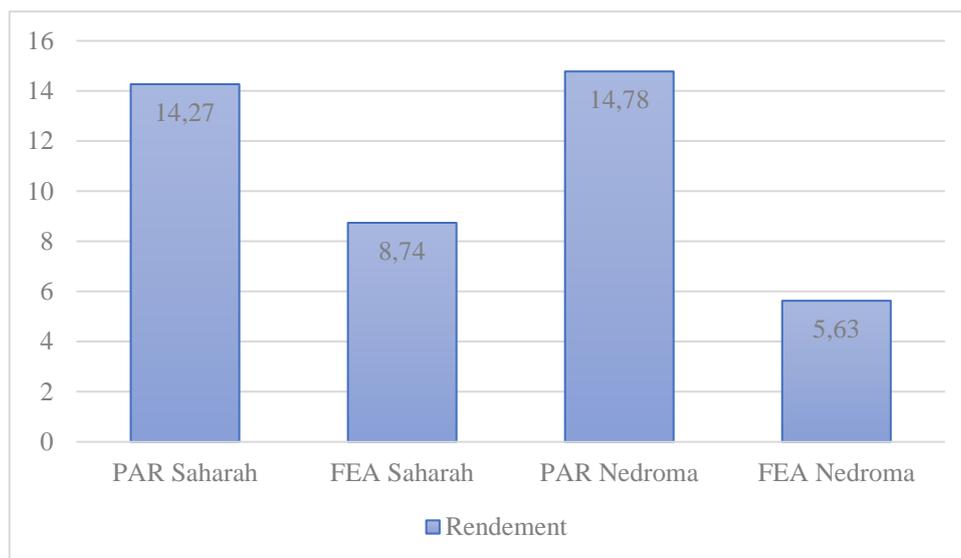


Figure 15 : Histogramme représentant le rendement des extraits d'*Olea europaea sylvestris* des deux régions

PAR : La phase aqueuse résiduelle ; **FEA :** La fraction d'éthyle acétate

○ **Discussion :**

Selon Santos et ses collaborateurs en 2012, cette différence dans les résultats de rendements des différents extraits peut être liée à plusieurs facteurs tels que : les conditions de stockage, la durée de stockage, le pH, la température et la composition de l'échantillon (Santos et al., 2012). Nous pouvons dire aussi que cette différence de rendement est influencée par la période et le lieu de récolte.

De plus, le rendement peut être influencée par la solubilité des composés chimiques dans le solvant d'extraction, leur degré de polymérisation, leur liaison avec d'autres structures chimiques qui forment des complexes insolubles (Cacase et Mazza, 2000).

1.2. Tests phytochimiques :

Le screening phytochimique, appelé aussi, le criblage phytochimique, est un test qui comporte plusieurs techniques de préparation et d'analyse des substances organiques naturelles de la plante à étudier.

Les résultats des tests phytochimiques obtenus pour les phases aqueuses résiduelles et les fractions d'acétate d'éthyle sont représentés dans le tableau 05.

Tableau 05 : Résultats des tests phytochimiques des phases aqueuses résiduelles et des fractions d'acétate d'éthyle

Classes chimiques	PAR (Sahara)	FEA (Sahara)	PAR (Nedroma)	FEA (Nedroma)
Saponosides	+++	-	+++	-
Tanins	+++	++	+++	++
Flavonoïdes	++ (Orange)	-	++ (Orange)	-
Quinones libres	+ (Rouge)	+ (Jaune)	+ (Rouge)	+ (Jaune)
Antraquinones	-	-	-	-
Terpénoïdes	-	+	-	+
Alcaloïdes	-	+ (Précipité blanc)	-	+ (Précipité blanc)
Composés réducteurs	++ (Précipité rouge brique)	++ (Précipité rouge brique)	+++ (Précipité rouge brique)	+++ (Précipité rouge brique)

PAR : La phase aqueuse résiduelle ; **FEA :** La fraction d'éthyle acétate

D'après les résultats mentionnés dans le tableau ci-dessus, les deux phases aqueuses résiduelles contiennent les saponosides, les tanins, les flavonoïdes, les quinones libres et les composés réducteurs.

Les fractions d'acétate d'éthyle ont présenté un test positif pour les tanins, les quinones libres, les alcaloïdes et les composés réducteurs.

1.3. Dosages quantitatifs

1.3.1. Quantification des polyphénols totaux :

Pour la quantification des polyphénols totaux au niveau de nos extraits, nous avons réalisé un dosage spectrophotométrique en utilisant le Folin – Ciocalteu. La gamme d'étalonnage (équation : $Y = 0,002x + 0,032$ avec $R^2 = 0,966$) a été tracée à l'aide des résultats de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique (Figure 16).

La teneur en polyphénol totaux est exprimée en microgrammes équivalent d'acide gallique par milligrammes d'extrait ($\mu\text{g EAG /mg d'extrait}$)

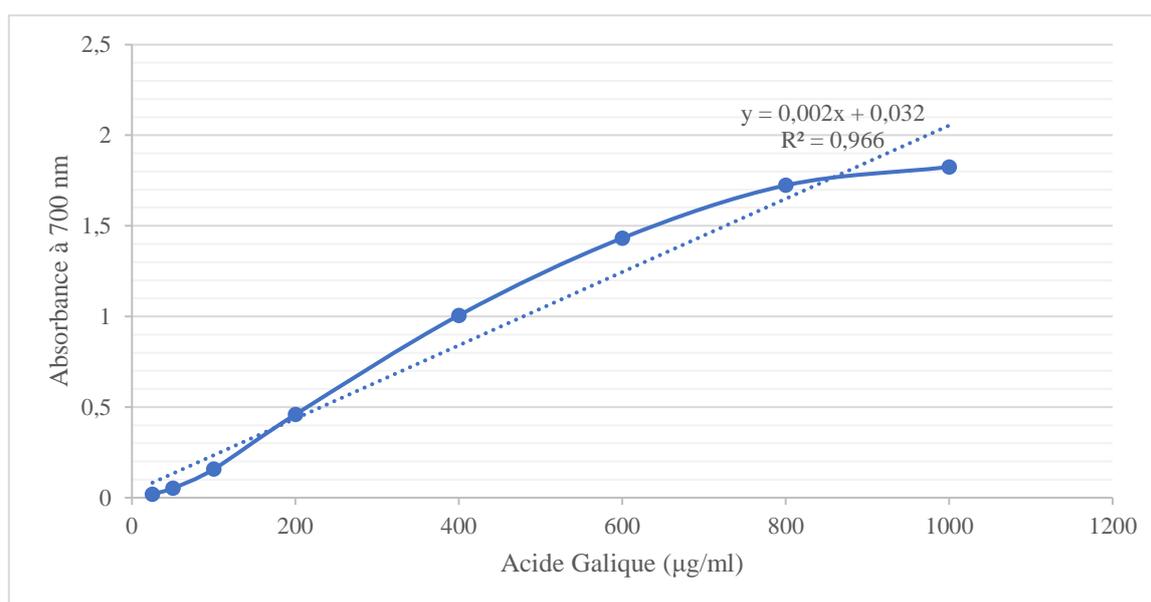


Figure 16 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

D'après nos résultats, la teneur en polyphénol des feuilles d'olivier sauvage des deux régions Nedroma et Sahara, révèlent que la phase aqueuse résiduelle de Sahara est plus riche en polyphénols avec une teneur de $197,45 \pm 0,007 \mu\text{g EAG / mg d'extrait}$, suivi par la phase aqueuse résiduelle de Nedroma avec une teneur de $121,1 \pm 0,005 \mu\text{g EAG / mg d'extrait}$. Les fractions d'acétate d'éthyle ont présenté des quantités inférieures, où la fraction de Sahara contient une teneur de $77,7 \pm 0,005 \mu\text{g EAG / mg d'extrait}$, suivi de la fraction de Nedroma qui a une teneur de $53,75 \pm 0,012 \mu\text{g EAG / mg d'extrait}$ (Figure 17).

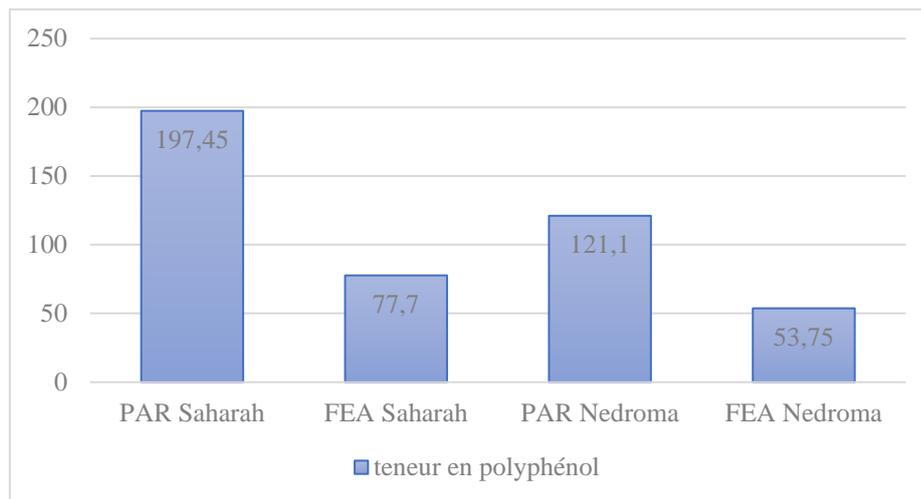


Figure 17 : Histogramme représentant les teneurs en polyphénols totaux des phases résiduelles et des fractions d'olivier sauvage des deux régions

PAR : La phase aqueuse résiduelle ; **FEA :** La fraction d'éthyle acétate

1.3.2. Quantification des flavonoïdes :

Pour la quantification des flavonoïdes au niveau de nos extraits, nous avons réalisé un dosage spectrophotométrique en utilisant le protocole de (Zhishen et al., 1999). La gamme d'étalonnage (équation : $Y = 0,002x + 0,0422$ avec $R^2 = 0,9836$) a été tracée à l'aide des résultats de la gamme d'étalonnage de la catéchine (Figure 18).

La teneur en catéchine est exprimée en microgrammes équivalent catéchine par milligrammes d'extrait ($\mu\text{g EC /mg d'extrait}$).

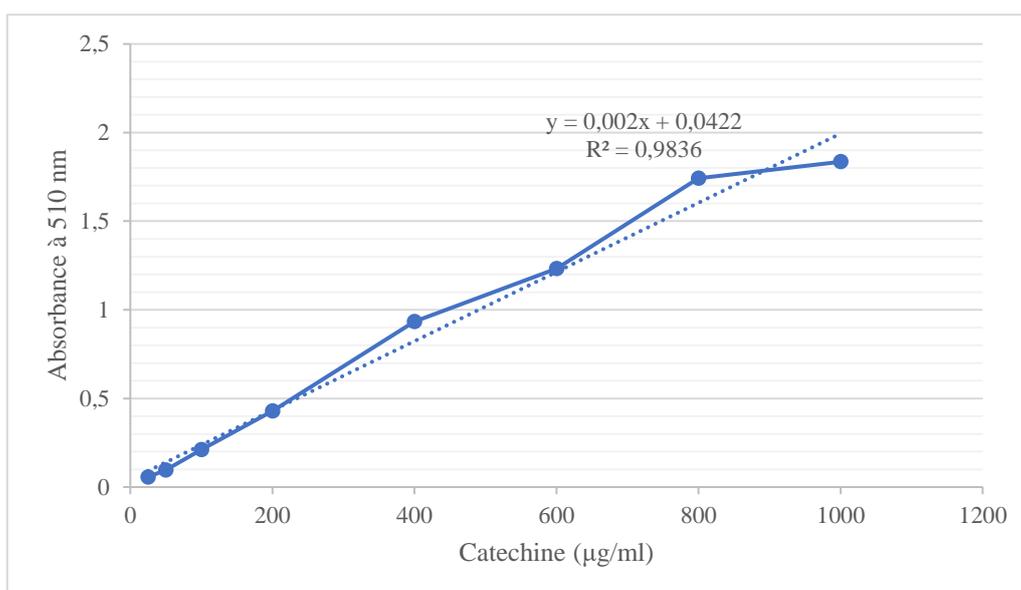


Figure 18 : Courbe d'étalonnage de la catéchine

D'après nos résultats représentés dans la figure 19, les teneurs en flavonoïdes des feuilles d'olivier sauvage révèlent que la fraction d'acétate d'éthyle de la région de Sahara est la plus riche en flavonoïde avec une teneur de l'ordre de $509,85 \pm 0,014 \mu\text{g EC} / \text{mg}$ d'extrait, suivi par la fraction d'acétate d'éthyle de Nedroma qui a révélé une teneur de $352,1 \pm 0,002 \mu\text{g EC} / \text{mg}$ d'extrait. Les phases aqueuses résiduelles ont présenté des quantités inférieures aux fractions. La phase de l'olivier sauvage de Nedroma contient une quantité similaire à celle de Sahara, avec des teneurs de l'ordre de $130,1 \pm 0,015 \mu\text{g EC} / \text{mg}$ d'extrait et $129,8 \pm 0,010 \mu\text{g EC} / \text{mg}$ d'extrait, respectivement.

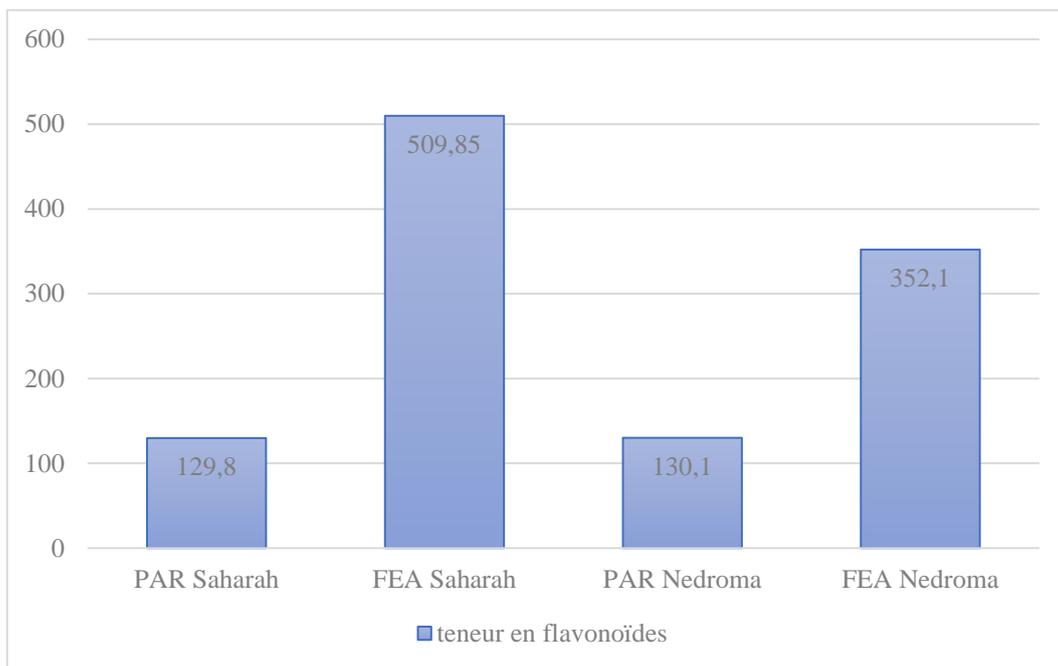


Figure 19 : Histogramme représentant les teneurs en catéchine des phases résiduelles et des fractions d'olivier sauvage des deux régions

PAR : La phase aqueuse résiduelle ; **FEA :** La fraction d'éthyle acétate

○ **Discussion :**

Makowska-Wąs et ses collaborateurs en 2017, ont réalisé les dosages quantitatifs des polyphénols totaux et des flavonoïdes de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Olea europaea sylvestris* du Portugal. Les auteurs ont obtenu des teneurs de l'ordre de $364,73 \pm 7,97 \text{ mg EAG/g}$ de matière sèche et $6,76 \pm 0,16 \text{ mg EQ/g}$ de matière sèche, respectivement (**Makowska-Wąs, et al., 2017**).

Hannachi et ses collaborateurs en 2019, ont quantifié les polyphénols totaux et les flavonoïdes de l'extrait méthanolique macéré des feuilles d'*Olea europaea sylvestris* de deux stations

différentes en Tunisie (oléastre 1 et oléastre 2). Les auteurs ont obtenu des teneurs en polyphénols totaux de l'ordre de 391,92 et 831,44 mg EAG/ 100 g de matière sèche, respectivement. Pareillement, les teneurs en flavonoïdes sont de l'ordre de 14,02 et 24,39 mg E Rutine / 100 g de matière sèche, respectivement (**Hannachi et al., 2019**).

Dans notre étude, l'ensemble des tests que nous avons réalisés, nous a permis de mettre en évidence la présence des flavonoïdes et des polyphénols. Il est important de noter que l'utilisation des plantes qui ont des origines géographique et climatiques différentes, ainsi que, la méthode d'extraction et les solvants utilisés influencent sur les teneurs en ces composés.

2. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits d'*Olea europaea sylvestris* :

Les teneurs importants en flavonoïde et en polyphénol totaux des extraits d'olivier sauvage nous ont incité à déterminer leur pouvoir antioxydant par l'utilisation du test de piégeage du radical libre DPPH.

Les résultats obtenus de l'effet antiradicalaire de l'acide ascorbique (contrôle positif) et des extraits sur le piégeage du radical DPPH, sont représentés dans les figures 20, 21, 22, 23, 24.

2.1. Piégeage du radical DPPH par l'acide ascorbique :

Les résultats que nous avons obtenus sont présentés dans la figure 20 (équation : $Y = 11,566x + 6,1602$ + 6,1602 avec $R^2 = 0,9933$).

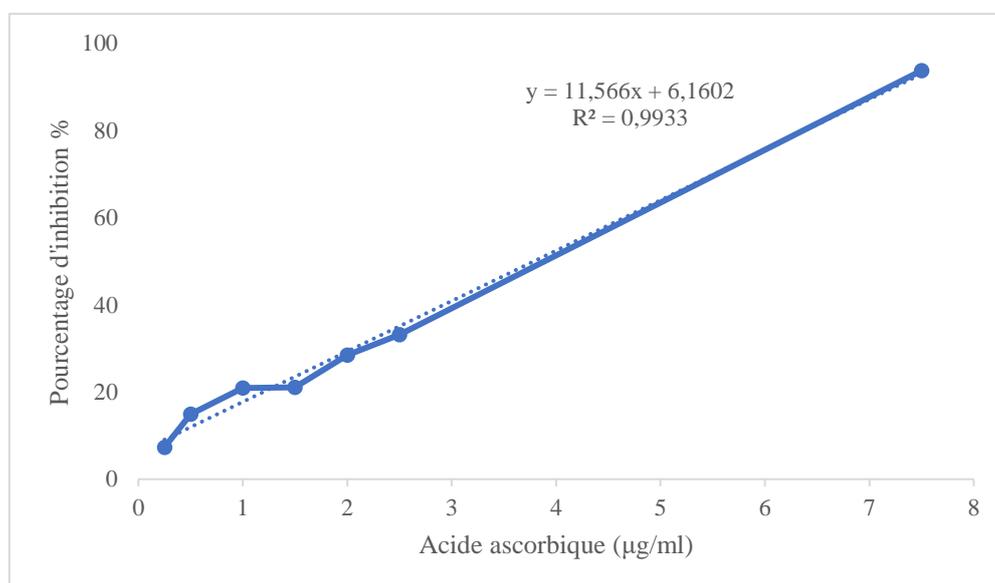


Figure 20 : Piégeage du radical DPPH par l'acide ascorbique

Nous remarquons que l'acide ascorbique présente un pouvoir antiradicalaire très important, avec un pourcentage d'inhibition de plus de 93 % pour une concentration de 7,5 µg /ml.

2.2. Piégeage du radical DPPH par la phase aqueuse résiduelle de Nedroma :

Les résultats que nous avons obtenus sont présentés dans la figure 21 (équation : $Y = 1,6622x - 0,0414$ avec $R^2 = 0,9934$).

Nous remarquons que la phase aqueuse résiduelle d'olivier sauvage de Nedroma présente un faible pouvoir antiradicalaire, avec pourcentage d'inhibition inférieur à 50 %.

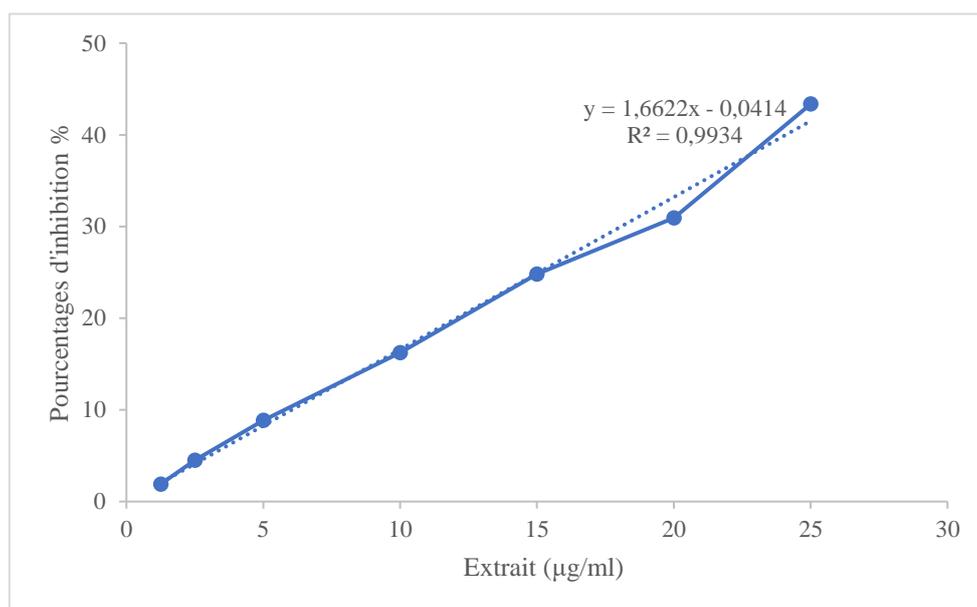


Figure 21 : Piégeage du radical DPPH par la phase aqueuse résiduelle d'olivier sauvage de Nedroma

2.3. Piégeage du radical DPPH par la phase aqueuse résiduelle de Sahara :

Les résultats que nous avons obtenus sont présentés dans la figure 22 (équation : $Y = 1,5268x + 5,1842$ avec $R^2 = 0,9657$).

La phase aqueuse résiduelle d'olivier sauvage de Sahara présente un pouvoir antiradicalaire similaire à celle de Nedroma, n'atteignant pas 50 % de pourcentage d'inhibition.

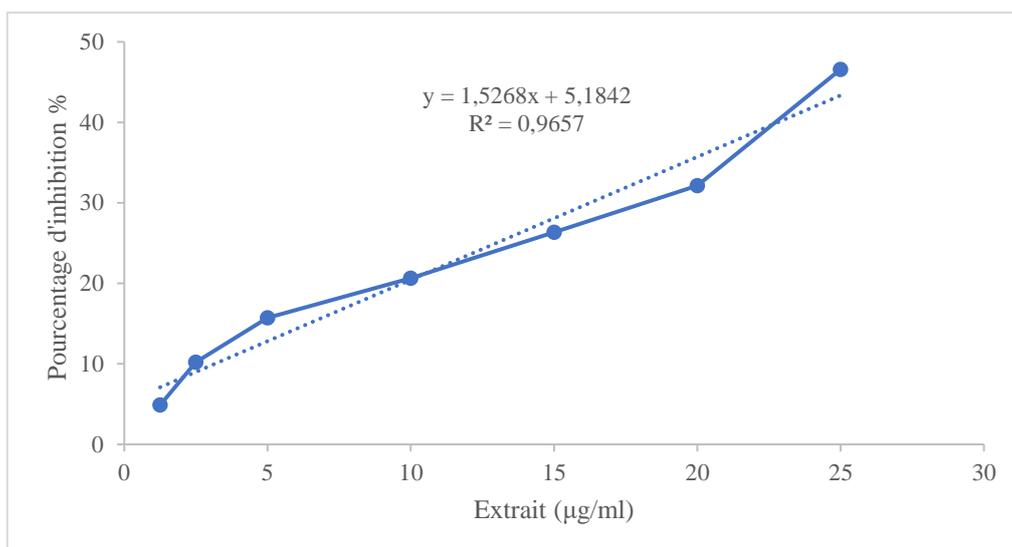


Figure 22 : Piégeage du radical DPPH par la phase aqueuse résiduelle d'olivier sauvage de Sahara

2.4. Piégeage du radical DPPH par la fraction d'acétate d'éthyle de Nedroma :

Les résultats que nous avons obtenus sont présentés dans la figure 23 (équation : $Y = 2,8355x + 3,0945$ avec $R^2 = 0,9933$).

D'après les résultats obtenus, la fraction d'acétate d'éthyle d'olivier sauvage de Nedroma présente un pouvoir antiradicalaire important par rapport aux phases aqueuses résiduelles, avec un pourcentage d'inhibition atteignant 75,14 % à la concentration de 25 µg/ml.

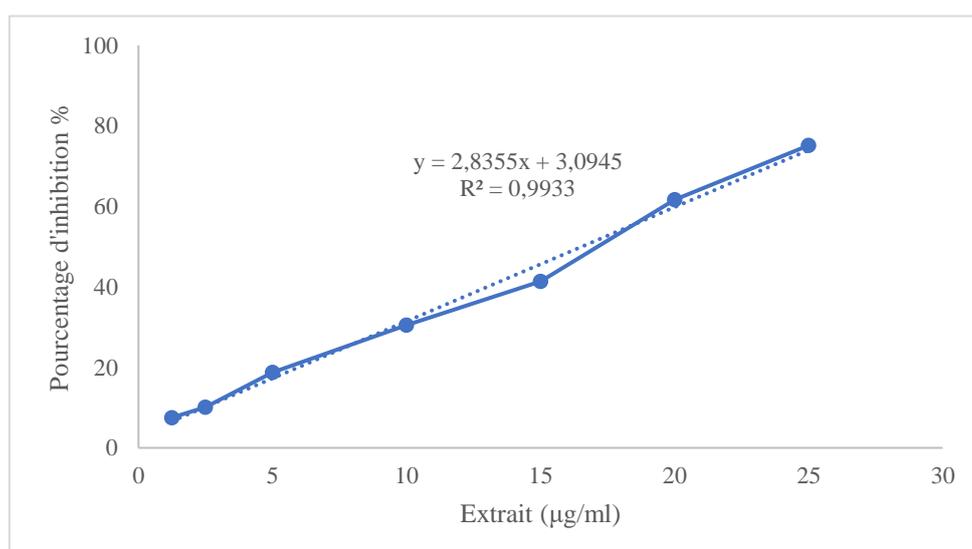


Figure 23 : Piégeage du radical DPPH par la fraction d'acétate d'éthyle d'olivier sauvage de Nedroma

2.5. Piégeage du radical DPPH par la fraction d'éthyle acétate de Sahara :

Les résultats que nous avons obtenus sont présentés dans la figure 24 (équation : $Y = 3,0721x + 6,3008$ avec $R^2 = 0,9818$).

Nous remarquons que la fraction d'acétate d'éthyle d'olivier sauvage de Sahara présente un pouvoir antiradicalaire légèrement meilleur par rapport à la première fraction, avec un pourcentage d'inhibition atteignant 83,34 % à la concentration de 25 $\mu\text{g/ml}$.

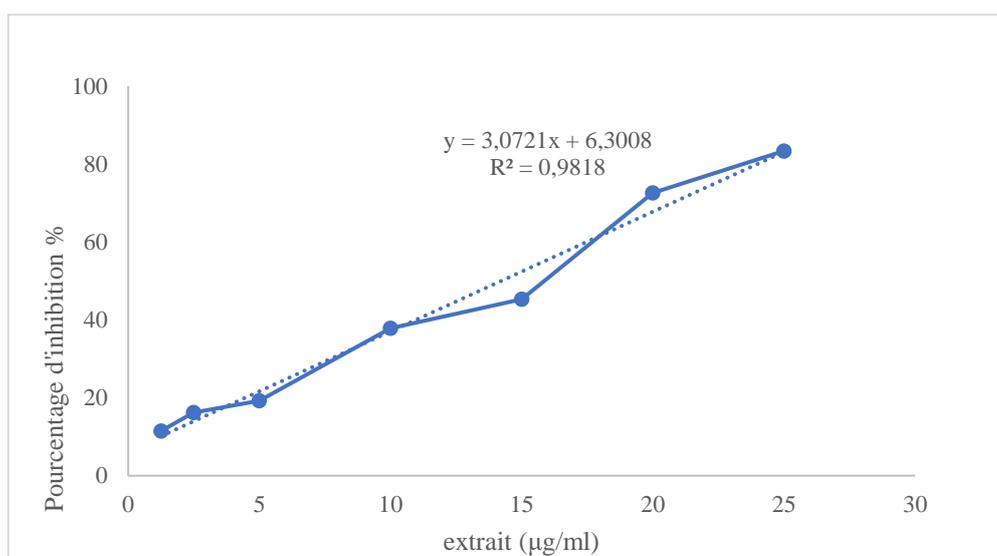


Figure 24 : Piégeage du radical DPPH par la fraction d'acétate d'éthyle d'olivier sauvage de Sahara

Selon les résultats mentionnés ci-dessus, nous observons que l'acide ascorbique présente une meilleure capacité antiradicalaire, avec de faibles concentrations (allant de 0,25 jusqu'à 7,5 $\mu\text{g/ml}$) en comparaison avec les extraits de l'olivier sauvage.

La valeur de la concentration inhibitrice de 50 % (CI_{50}) du radical DPPH, a été déterminée à partir des équations de régression linéaire des courbes précédentes, pour l'acide ascorbique, ainsi que pour les extraits d'*Olea europaea sylvestris* (Tableau 06). La CI_{50} est définie comme étant la concentration inhibitrice de l'antioxydant nécessaire pour réduire 50 % la concentration initiale du radical libre DPPH (Christodoulou et al., 2022).

Nous avons déterminé cette valeur dans le but d'évaluer l'efficacité de nos extraits. Plus la valeur de CI_{50} est moins élevée, plus l'activité antioxydante est plus élevée.

Tableau 06 : Valeurs des CI_{50} des extraits d'*Olea europaea sylvestris* et de l'acide ascorbique

Echantillons	Acide ascorbique	FAE Nedroma	PAR Nedroma	FAE Sahara	PAR Sahara
Valeur de CI_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	$3,79 \pm 0,028$	$16,54 \pm 0,021$	$30,10 \pm 0,031$	$14,22 \pm 0,005$	$29,35 \pm 0,006$

PAR : La phase aqueuse résiduelle ; **FEA :** La fraction d'éthyle acétate

Les résultats de l'effet antiradicalaire le plus élevé des différents extraits ($25 \mu\text{g/ml}$) sur le piégeage du radical DPPH exprimés en pourcentage et en valeurs de CI_{50} sont représentés dans les figures 25 et 26.

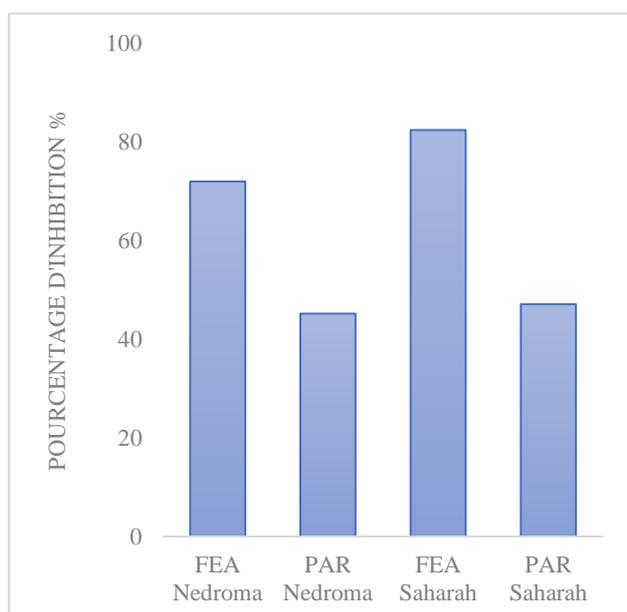


Figure 25 : Histogramme représentant les valeurs des pourcentages d'inhibition du DPPH par échantillons

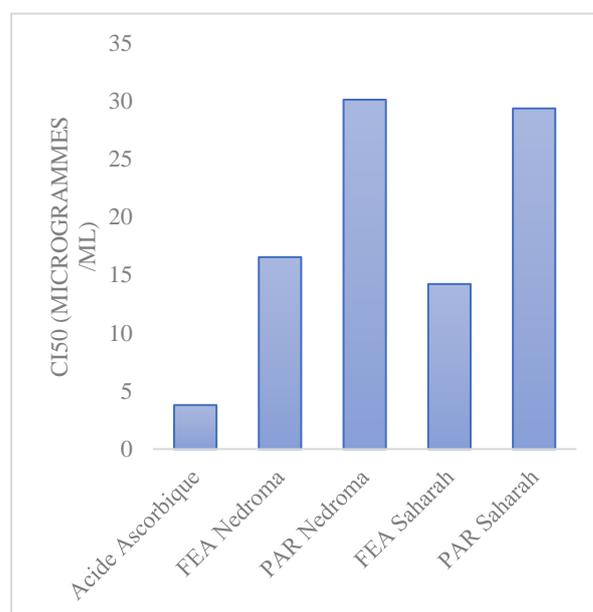


Figure 26 : Histogramme représentant les valeurs des CI_{50} des échantillons

FEA Nedroma : Fraction d'acétate d'éthyle de Nedroma ; **PAR Nedroma :** Phase aqueuse résiduelle de Nedroma ; **FEA Sahara :** Fraction d'acétate d'éthyle de Sahara ; **PAR Sahara :** Phase aqueuse résiduelle de Sahara.

D'après les figures et le tableau ci-dessus représentant de l'activité antiradicalaire de nos extraits d'oliviers sauvages sur le DPPH, les résultats révèlent que la concentration finale de la fraction d'acétate d'éthyle de la région de Sahara ($25 \mu\text{g/ml}$) possède un pourcentage d'inhibition maximum de $83,34 \% \pm 0,005$. La fraction d'acétate d'éthyle de Nedroma présente un

pourcentage inférieur à la fraction de Sahara, et qui est égale à $75,14 \% \pm 0,021$. Par la suite, la phase aqueuse résiduelle de Sahara a présenté un pourcentage de $46,59 \% \pm 0,006$ pour une concentration maximale à la même concentration que celle des fractions. La phase aqueuse résiduelle de Nedroma a présenté le pourcentage le plus faible ($43,35 \% \pm 0,031$) pour une concentration maximale ($25 \mu\text{g/ml}$).

En comparant les résultats de nos extraits avec un étalon, l'acide ascorbique, considéré comme un antioxydant standard, ces résultats restent toujours inférieurs à l'étalon, qui présente un pourcentage d'inhibition de $93,70 \% \pm 0,028$ pour une concentration de $7,5 \mu\text{g/ml}$.

La CI_{50} ou la concentration inhibitrice moyenne du piégeage du radical DPPH, est une valeur qui est inversement proportionnelle à la capacité antioxydante d'un antioxydant. Cette concentration est déterminée à partir de la droite de régression linéaire des courbes des pourcentages d'inhibition par rapport à la concentration des extraits.

La valeur de CI_{50} déterminée graphiquement pour la fraction d'acétate d'éthyle de Sahara est de $14,22 \mu\text{g/ml}$, suivi par la CI_{50} de la fraction d'acétate d'éthyle de Nedroma ($16,54 \mu\text{g/ml}$). Les phases aqueuses résiduelles ont exhibé des CI_{50} plus élevées que les fractions, où la phase aqueuse résiduelle de Sahara a une CI_{50} égale à $29,35 \mu\text{g/ml}$, suivie la CI_{50} de la phase aqueuse résiduelle de Nedroma ($30,10 \mu\text{g/ml}$).

Ces quatre valeurs des extraits testés restent toujours supérieures à celle de l'acide ascorbique, qui présente une CI_{50} égale à $3,79 \mu\text{g/ml}$.

Comme nous l'avons mentionné précédemment, plus cette valeur de CI_{50} est moins élevée plus l'activité antiradicalaire est plus élevée.

Pour cela, l'ordre de l'activité antiradicalaire de nos extraits et de l'acide ascorbique sera le suivant :

Acide ascorbique > FAE (Sahara) > FAE (Nedroma) > PAR (Sahara) > PAR (Nedroma)

FAE : Fraction d'éthyle acétate ; **PAR** : Phase aqueuse résiduelle

Plusieurs facteurs peuvent influencer cette différence entre les activités antioxydantes de nos extraits provenant de deux régions différentes (Nedroma (Tlemcen) et Sahara (Hassi Messaoud)).

Nous avons les facteurs environnementaux, tels que **le climat** (l'intensité lumineuse, la sécheresse, la température, l'humidité et la précipitation), **le sol** (le type de sol, le pH, le teneur

en nutriments, la salinité) et l'**altitude** (l'altitude influence les conditions climatiques locales tels que la température et la précipitation).

Nous avons aussi des facteurs génétiques, tels que **la variété** (différentes variétés d'oliviers sauvages possèdent des propriétés génétiques distincts), **l'adaptation locale** (les oliviers sauvages s'adaptent au fil de temps aux conditions environnementales locales ce qui va conduire à des variations génétiques au sein de la même espèce, mais provenant de régions différentes).

Cette activité antioxydante peut être influencée par des facteurs anthropiques, tels que **la pratique agricole** (irrigation, fertilisation, la taille) ou par la **pollution** (l'exposition aux pesticides etc).

Conclusion

Conclusion

Le présent travail a pour l'objectif l'évaluation de l'activité antioxydante de l'olivier sauvage de deux régions : Hassi Messaoud au Sahara et Nedroma à Tlemcen.

Cette étude a pour objectif l'évaluation qualitative et quantitative de certains composés bioactifs des feuilles de l'olivier sauvage, récoltés de deux régions différentes (Nedroma à Tlemcen et Hassi Messaoud au Sahara). Ainsi que, déterminer l'activité antioxydante des fractions d'acétate d'éthyle et des phases aqueuses résiduelles préparées à partir de 'extrait hydroacétonique macéré (30/70) (v/v) pendant 48 heures.

Les résultats du dosage de polyphénol et de flavonoïdes totaux des phases aqueuses résiduelles et des fractions d'éthyle acétate de la région de Sahara ont montré la teneur la plus élevée de l'ordre de ($197,45 \pm 0,007 \mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait) et ($509,85 \pm 0,014 \mu\text{g EC/mg}$ d'extrait), respectivement. En ce qui concerne l'activité antioxydante, la méthode de piégeage du radical DPPH a révélé une importante activité de la fraction d'acétate d'éthyle de Sahara avec une valeur de CI_{50} de $14,22 \pm 0,005 \mu\text{g/ml}$ et un pourcentage d'inhibition atteignant 83,34 %, suivi par la fraction d'acétate d'éthyle de Nedroma avec une valeur de CI_{50} de $16,54 \pm 0,021 \mu\text{g/ml}$ et un pourcentage d'inhibition atteignant 75,14%.

Nous pouvons conclure que l'olivier sauvage a une activité antioxydante intéressante, et plus spécifiquement, les fractions d'acétate d'éthyle, qui constituent une source prometteuse de molécules bioactives qui peuvent être exploitées pour lutter contre certaines maladies.

Le travail entrepris dans notre mémoire est considéré comme une étude préliminaire, qui nécessite davantage de recherches sur cet arbre et ses composants chimiques, ainsi que son utilisation dans le domaine médical comme le traitement de stress oxydatif.

Nous nous intéressons par la suite, à :

- Evaluation de l'activité antioxydante de cet arbre par l'utilisation d'autres solvants et d'autres méthodes d'extraction ;
- Evaluation de l'activité antioxydante des autres parties de la plante (fruit, racine, tige...) ;
- Evaluation des autres activités biologiques, comme l'activité antifongique, anti-inflammatoire, antibactérienne et antidiabétique.

Bibliographie

Bibliographie

- Al-Attar AM, Alsalami FA (2019). Effect of *Olea europaea* leaves extract on streptozotocin induced diabetes in male albino rats. Saudi journal of biological sciences, 26 (1) : 118 – 128.
- Alain Favier, 2003. Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique)
- Amel, B., & Rihana, B. (2020). Effet d'extrait des feuilles d'olivier sur les bactéries pathogènes : Synthèse bibliographique.
- Amouretti, M.C & Comet, G. (1985). Le livre de l'olivier. Édisud : Aix-en-Provence.
- Arvy .M-P. (2012). Des plantes et des pains nutrition et sensorialité. Lavoisier : Tec & Doc)page 3
- Ater .M., Barbara ,H & Kassout ,D .2016 . Importance des variétés locales, de l'oléastre et des pratiques traditionnelles de l'oléiculture dans la région de Chefchaouen (Nord du Maroc). *L'Oléiculture au Maroc de la préhistoire à nos jours : pratiques, diversité, adaptation, usages, commerce et politiques, 109-121*
- Barbara H, Terral JF, Ater – Eur M, Sci. J. ESJ .2020 Première Caractérisation Pomologique des Variétés Locales De L'olivier (*Olea europaea*, L.) Des Oliveraies Traditionnelles des Agroécosystèmes des Montagnes Du Nord-Ouest Du Maroc. *Eur. Sci. J. ESJ, 16, 556-575.*
- Berger, M. M. (2006). Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nutrition clinique et métabolisme, 20(1), 48-53.*
- Bisbal, C., Lambert, K., & Avignon, A. (2010). Antioxidants and glucose metabolism disorders. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care, 13(4), 439-446.*
- Boudjouref M .2011. Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'Artemisia campestris L. *Artemisia campestris, p31-75*
- Bouliba Amel & Bouabida Rihana ,2020. Effet d'extrait des feuilles d'olivier sur les bactéries pathogènes : Synthèse bibliographique. Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master. Université 08 mai 1949. Guelma)
- Boussadi R & Bououden I (2020). Étude bibliographique des méthodes de synthèse et de l'activité biologique de la quinoléine et ses dérivés ; stress oxydant et activité antioxydante. Mémoire pour l'obtention du diplôme de master en Chimie Organique. University of Jijel)

- Breton, C., Médail, F., Pinatel, C., & Bervillé, A. (2006). De l'olivier à l'oléastre : origine et domestication de l'*Olea europaea* L. dans le Bassin méditerranéen. *Cahiers Agricultures*, 15(4), 329-336.
- Chemopreventive agents against cancer. *British Journal of Cancer* (2008) 98, 1157 – 1160
- Chevallier Andrew ,2017 Larousse des plantes médicinales. Identification, préparation , soins .550 plantes décrites .1000 photographies .
- Chiappetta, A & Muzzalupo, I. (2012). Botanical Description. In Olive Germplasm The Olive Cultivation, Table Olive and Olive Oil Industry in Italy, I. Muzzalupo, ed.(InTech).
- Christelle Kaechlin-Ramonatxo ;2006, Oxygen, oxidative stress and anti oxidant supplementation,or another way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition clinique et métabolisme*.vol (12),p 165-177
- Christodoulou MC, Orellana Palacios JC, Hesami G, Jafarzadeh S, Lorenzo JM, Domínguez R, Moreno A, Hadidi M (2022). Spectrophotometric methods for measurement of antioxidant activity in food and pharmaceuticals. *Antioxidants* (Basel), 11(11) : 2213.
- Claridge, M. F., & Walton, M. (1992). The European olive and its pests-management strategies. *MONOGRAPHS-BRITISH CROP PROTECTION COUNCIL*, 3-3.
- Debuigne G , Couplan F (2009).Le petit Larousse des plantes médicinales
- Djenane D., Yangüela J., Derriche F., Bouarab L., Roncales P. (2012). Utilisation des composés de feuilles d'olivier comme agents antimicrobiens : Application pour la conservation de la viande fraîche de dinde. *Revue « Nature & Technologie »*. N° 07, P5361.
- Droge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological reviews*, 82(1), 47-95.
- Durand, A., & Terral, J. F. (2005). Regarder autrement le charbon de bois archéologique: l'exemple de l'irrigation des plantations d'oliviers en France méridionale et en Catalogne (IXe-XVe siècle). *Archéologie du Midi médiéval*, 23, 75-92.
- Emberger, L. (1960). Regards sur l'aphylogenese des vegetaux. *Archives de Philosophie*, 23(1), 79-98.

- Fanelli, V., Mascio, I., Falek, W., Miazzi, M. M., & Montemurro, C. (2022). Current Status of Biodiversity Assessment and Conservation of Wild Olive (*Olea europaea* L. subsp. *europaea* var. *sylvestris*). *Plants*, 11(4), 480.
- Forman, H. J., & Zhang, H. (2021). Targeting oxidative stress in disease: Promise and limitations of antioxidant therapy. *Nature Reviews Drug Discovery*, 20(9), 689-709.
- Ghouti Mohamed, H. H. (2019). Simulation du pouvoir antioxydant de deux anticancéreux de la famille des antimétabolites.
- Girodon F., Blache D., Monget A.D., Lombart M., Brunet- Lecompte P., Arnaud J., Richard M.J. & Galan P., (1997). Effect of a two-year supplementation with low doses of antioxidant vitamins and/or minerals in elderly subjects on levels of nutrients and antioxidant defense parameters. *Journal of the American College of Nutrition*. 16 (4), p 357-365
- Green & Wickens, 1989; Vargas et al., 2001; Médail et al., 2001 ; Green, 2002)
- Green P.S. 2002. A revision of *Olea*. (Oleaceae), *Kew Bulletin*. Vol. 57.91-140.
- Gutteridge, J. M. (1985). *Free radicals in biology and medicine*. Clarendon Press.
- Halliwell B, Gutteridge JMC ,1989. Free Radicals in Biology and Medicine. 2nd Edition, Clarendon Press, Oxford, 22-85.
- Halliwell, B.; Gutteridge, J.M.C (2007). Free Radicals in Biology and Medicine, 4th ed.; Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., Eds.; Oxford University Press: New York, NY, USA)
- Hannachi, H., Elfalleh, W., Laajel, M., Ennajeh, I., Mechlouch, R. F., & Nagaz, K. (2020). Chemical profiles and antioxidant activities of leaf, pulp, and stone of cultivated and wild olive trees (*Olea europaea* L.). *International journal of fruit science*, 20(3), 350-370.
- Hmimsa, Y., Ater, M., & Khadari, B. (2014). Beyond the divide between wild and domesticated: spatiality, domesticity and practices pertaining to fig (*Ficus carica* L.) and olive (*Olea europaea* L.) agroecosystems in Morocco. *Crops and people: choices and diversity through time*. Brussels, Earth EU, London, OXFAM, 191-197.
- Iannitti, T., & Palmieri, B. (2009). Antioxidant therapy effectiveness: an up to date. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 13(4), 245-278.
- il J., Defraigne J. O., Charlier C., & Chapelle J.P. (2007). Le stress oxydant. *Revue Médicale de Liège*., vol 62 (10), 628-638

- Kiritsakis, A. K. (1998). Flavor components of olive oil—A review. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75(6), 673-681.
- Koechlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygen, oxidative stress and anti-oxidant supplementation, or another way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20(4), 165.
- Kostelenos, G., & Kiritsakis, A. (2017). Olive tree history and evolution. *Olives and olive oil as functional foods: bioactivity, chemistry and processing*, 1-12.
- Lakache Z., Tigrine C., Aliboudhar H., Kameli A. (2019). Composition chimique, activités anti-inflammatoire, antalgique et cytotoxique in vivo de l'extrait méthanolique des feuilles d'Olea europaea. *Phytothérapie.*, vol 19, pp 83-92.
- Lannitti T, Palmieri B (2009). Antioxidant therapy effectiveness: An up to date. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 13 (4) : 245 – 278.
- Loumou, A., & Giourga, C. (2003). Olive groves: "The life and identity of the Mediterranean". *Agriculture and human values*, 20, 87-95.
- Lu L., Hu W., Tian Z., Yuan D., Yi G., Zhou Y., Cheng Q., Zhu J & Li M. (2019). Developing natural products as potential anti-biofilm agents. *Chinese Medicine Review.*, *Chinese medicine*. Vol 14 (11), 17p
- M. Ghouti, H. Halbigue, Simulation du pouvoir antioxydant de deux anticancéreux de la famille des antimétabolites. Mémoire de master, université de Djilali Bounaama-Khemis Miliana, 2019.)
- M.M.Berger, Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances, *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 20, (2006), 48–53.
- Makowska-Wąs J, Galanty A, Gdula-Argasińska J, Tyszka-Czochara M, Szewczyk A, Nunes R, Carvalho IS, Michalik M, Paško P (2017). Identification of Predominant Phytochemical Compounds and Cytotoxic Activity of Wild Olive Leaves (*Olea europaea* L. ssp. *sylvestris*) Harvested in South Portugal. *Chemistry and biodiversity*, 14(3).
- Martemucci, G., Costagliola, C., Mariano, M., D'andrea, L., Napolitano, P., & D'Alessandro, A. G. (2022). Free radical properties, source and targets, antioxidant consumption and health. *Oxygen*, 2(2), 48-78.
- Medjadi Nesrine & Malouci Ikram 2020 , Évaluation Phytochimique et biologique de la plante médicinale "Artemisia herba alba"(Mémoire de Master. Université des Frères Mentouri Constantine)

- Migdal C., Serres M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Revue médecine/sciences.*, vol 27, 405-12.
- Min, D. B., & Boff, J. M. (2002). Chemistry and reaction of singlet oxygen in foods. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 1(2), 58-72.
- Mourad, B., Mihoub, Z. M., & Sétif, U. F. A. (2011). Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. *Mémoire pour l'obtention du diplôme de Magister, Université Ferhat Abbas-Setif*.
- Mulas M. and Deidda P. 1998. Domestication of woody plants from Mediterranean maquis to promote crops for mountain l
- Mulas, M., & Deidda, P. (1997, May). Domestication of woody plants from Mediterranean maquis to promote new crops for mountain lands. In *Symposium on Plant Biotechnology as a tool for the Exploitation of Mountain Lands 457* (pp. 295-302).
- Munteanu, IG; Apetrei, C .2021. Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. *International journal of molecular sciences* 22 (7), 3380)
- Muzzalupo, I. (Ed.). (2012). *Olive Germplasm: The Olive Cultivation, Table Olive and Olive Oil Industry in Italy*. BoD–Books on Demand.
- Nabors M (2008). *Biologie végétale. Structure, fonctionnement, écologie et biotechnologies*. Pearson Éducation France
- Picchi ,A ; Gao,X, Belmadani,S ; Potter,B-J ;Focardi ,M ; William M. Chilian and Zhang,C .2006. Tumor Necrosis Factor- α Induces Endothelial Dysfunction in the Prediabetic Metabolic Syndrome. *Circulation research* 99 (1), 69-77
- R.S.Balaban., S.emoto, T.Finkel, Mitochondria, oxidants, and aging. *Cell*, 2005, 120, 483-495
- R.S.Sohal, R.J.Mockett, W.C.Orr, Antioxidants and Quality of Aging: Further Evidences for a Major Role of TXNRD1 Gene Variability on Physical Performance at Old Age, *J.Free Radical Biology.Medicine*, 33, (2002), 575–586.
- Rigas, B., & Sun, Y. (2008). Induction of oxidative stress as a mechanism of action of chemopreventive agents against cancer. *British journal of cancer*, 98(7), 1157-1160.
- Rodrigues N, Pinho T, Casal S, Peres AM, Baptista P, Pereira JA (2020). Chemical Characterization of Oleaster, *Olea europaea* var. *sylvestris* (Mill.) Lehr., Oils from Different Locations of Northeast Portugal. *Applied sciences*, 10, 6414.

- Rolland, Y. (2004). Antioxydants naturels végétaux. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 11(6), 419-424.
- RS, B. (2005). Mitochondria, oxidants, and aging. *Cell*, 120, 483-495.
- Şahin & Bilgin ,2018 . Olive tree (*Olea europaea* L.) leaf as a waste by-product of table olive and olive oil industry: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 98 (4). p 1271-1279
- Sahli R. (2017). Etude phytochimique de quelques plantes extremophiles tunisiennes et exploration de leurs activités biologiques. Thèse de Doctorat en "Sciences du médicament et des autres produits de santé". Université de Carthage, Tunisie
- Sohal, R. S., Mockett, R. J., & Orr, W. C. (2002). Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(5), 575-586.
- Terral, J. F. (1999). La morphométrie à la recherche des origines de la culture et de la domestication des arbres fruitiers: le modèle de l'olivier en méditerranée nord-occidentale. *ArchéoSciences, revue d'Archéométrie*, 23(1), 101-126.
- Valerie F. (2019). Petite guide des antioxydants. remedes-de-grand-mere.com.
- Valko, M; Rhodes, C. J; Moncol, J; Izakovic, M.; Mazur, M (2006). Free Radicals , Metals and antioxydants in oxydative stress – induced Cancer *chem . Biol. Interact.*, 160, 1 – 40)
- Valko, M; Morris, H; and Cronin M.T.D, 2005 Metals, Toxicity and Oxidative Stress. *Current Medicinal Chemistry*, 12, 1161-1208
- Valko, M. M. H. C. M., Morris, H., & Cronin, M. T. D. (2005). Metals, toxicity and oxidative stress. *Current medicinal chemistry*, 12(10), 1161-1208.
- Valko, M., Rhodes, C. J. B., Moncol, J., Izakovic, M. M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 160(1), 1-40.
- Wainstein J, Ganz T, Boaz M, Bar Dayan Y, Dolev E, Kerem Z, Madar Z (2012). Olive leaf extract as a hypoglycemic agent in both human diabetic subjects and in rats. *Journal of medicinal food*, 15 (7) : 605 – 610.
- Yildiz Aumeeruddy-Thomas, Younes Hmimsa, Mohammed Ater, Bouchaïb Khadari .2014. Beyond the divide between wild and domesticated: spatiality, domesticity and practices pertaining to fig (*Ficus carica* L.) and olive (*Olea europaea* L.) agroecosystems in Morocco. *Crops and people: choices and diversity through time. Brussels, Earth EU, London, OXFAM*, p 191-197

- Zunino L, Cubry P, Sarah G, Mournet P, ElBakkali A, Aqbouch L, Sidibe-Bocs S, Costes E, Khadari B .2024. Genomic evidence of genuine wild versus admixed olive populations evolving in the same natural environments in western Mediterranean Basin. *PLoS ONE* 19(1). p 01-18